

Cytologisch-immunologisches
Monitoring
nach Herztransplantationen.
Differentialdiagnose
inflammatorischer Prozesse
im peripheren Blut.

Michael Plahl

AUS DEM INSTITUT FÜR CHIRURGISCHE FORSCHUNG
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

(VORSTAND: PROF. DR. DR. W. BRENDEL)

Cytologisch-immunologisches Monitoring
nach Herztransplantationen.
Differentialdiagnose inflammatorischer Prozesse
im peripheren Blut.

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Michael Plahl
aus Freising

Jahr 1987

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof.Dr.med.Dr.med.vet.C.Hammer

Mitberichterstatter: Prof.Dr.med.Dr.h.c.W.Brendel
Prof.Dr.med.Dr.h.c.W.Klinner

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr.med.Ch.Lersch

Dekan: Prof.Dr.med.W.Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 19.03.1987

Abkürzungsverzeichnis

A.	Arterie
AR	Abstoßungsreaktion
BI	Bakterielle Infektion
°C	Grad Celsius
CIM	Cytologisch-Immunologisches Monitoring
CK	Creatinkinase
CMP	Cardiomyopathie
CMV	Cytomegalie-Virus
CY-A	Cyclosporin A
Aqua dest.	Aqua destillata
EBV	Epstein-Barr-Virus
EKG	Elektrokardiogramm
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
γ-GT	γ-Glutamyl-Transpeptidase
HAV	Hepatitis A Virus
HLA	Human Leucocyte Antigen
H-LTP	Herz-Lungen-Transplantation
HMB	Herzmuskelbiopsie
HSV	Herpes simplex Virus
HTP	Herztransplantation
IGM	Immunglobulin M
i.v.	intravenös
LB	Lymphoblast
LDH	Lactatdehydrogenase
LGL	Large Granular Lymphocyte
LZ	Lymphozyt
N.	Nervus
NaCl	Natriumchlorid
NYHA	New York Heart Assoziation
op	Operation
U/min.	Umdrehungen pro Minute
V.	Vene
VI	Virusinfektion
vs	versus
WBC	White blood cells

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Einleitung	1
2. Patienten und Methode	6
2.1. Patienten	6
2.2. Transplantationstechnik	9
2.3. Immunsuppression	12
2.4. Postoperative Überwachung	14
2.5. Cytologisch-Immunologisches Monitoring	17
2.6. Berechnungen	23
3. Ergebnisse	26
3.1. Abstoßungsreaktionen	28
3.1.1. Diagnose und Klinik von Abstoßungsreaktionen	28
3.1.2. Ergebnisse im Cytologisch-Immunologischen Monitoring	31
3.2. Bakterielle Infektionen	38
3.2.1. Diagnose und Klinik von bakteriellen Infektionen	38
3.2.2. Ergebnisse im Cytologisch-Immunologischen Monitoring	41
3.3. Virale Infektionen	46
3.3.1. Diagnose und Klinik von viralen Infektionen	46
3.3.2. Ergebnisse im Cytologisch-Immunologischen Monitoring	48

	Seite
3.4. Differentialdiagnose	53
3.5. Beispiele zur Differentialdiagnose	64
4. Diskussion der Ergebnisse	68
4.1. Gegenwärtiger Stand der Herztransplantation	68
4.2. Abstoßungsreaktionen	71
4.2.1. Abstoßungsmechanismus	71
4.2.2. Diagnostik von Abstoßungsreaktionen	73
4.2.3. Veränderungen im peripheren Blut	76
4.3. Bakterielle Infektionen	87
4.3.1. Veränderungen im peripheren Blut	88
4.4. Virale Infektionen	93
4.4.1. Veränderungen im peripheren Blut	95
5. Zusammenfassung	104
6. Abbildungen	108
7. Literaturverzeichnis	125

1. EINLEITUNG

Treten bei jugenlichen Personen Zeichen einer Herzinsuffizienz auf, die mit konservativen Methoden nicht mehr kompensiert werden kann, dann haben diese schwerkranken und leistungsgeminderten Patienten nur noch eine geringe Lebenserwartung (70, 119, 120, 151, 207). Bei den teilweise sehr jungen Patienten sind diese ausgeprägten Myokardschäden oft auf Kardiomyopathien zurückzuführen, deren Genese unbekannt ist. Nach neuesten, noch unveröffentlichten Erkenntnissen, sollen diese primären Kardiomyopathien durch klinisch stumm abgelaufene Virusmyokarditiden verursacht sein.

Jedoch auch wenn man die Ursache einer solchen schweren Herzinsuffizienz kennt, wie zum Beispiel nach großen oder multiplen Myokardinfarkten, sind die Möglichkeiten einer konservativen Therapie sehr begrenzt. Diese Therapieresistenz führte schon vor vielen Jahren zum Versuch, das erkrankte Organ auszutauschen und eine Herztransplantation durchzuführen.

Hardy begann 1964 mit der klinischen Herztransplantation (84). Aber erst Barnard war im Jahre 1967 so erfolgreich, daß die operierten Patienten das Krankenhaus wieder verlassen konnten (5, 6). Wichtige Beiträge zum Aufbau und zur Fortentwicklung

der klinischen Herztransplantation haben Shumway und Lower geleistet (119, 120, 196).

In Deutschland wurde bereits im Jahre 1969 von Zenker eine Herztransplantation durchgeführt (191, 236). Da dieser Eingriff vor allem wegen der unzureichenden Indikationsstellung keinen Langzeiterfolg hatte, dauerte es bis zum Mai 1981, bis von Struck am Deutschen Herzzentrum München wieder eine Herztransplantation vorgenommen wurde (207). Seit diesem Zeitpunkt wurden im Klinikum Großhadern über 60 Herzen transplantiert.

Die größte Problematik eines solchen Herzaustausches stellt, wie auch bei fast allen anderen Organen, die Immunantwort des Körpers auf das fremde Gewebe dar, während das technisch-operative Vorgehen weitgehend beherrscht wird (118, 193). Um den Organismus an der Zerstörung des fremden Organs zu hindern, wurden Medikamente eingesetzt, die das Immunsystem mit seinen für die Abstoßungsreaktion verantwortlichen T-Lymphozyten quantitativ reduzierten. Mit Hilfe von Azathioprin, einem Antimetaboliten, von Kortikosteroiden und von gegen T-Zellen gerichteten Anti-Thymozytenglobulin, gelang es, die empfindlichen T-Lymphozyten zu reduzieren (19, 156). Preis dieser unselektiven Schwächung des Abwehrsystems war eine große Zahl von schwerwiegenden Infektionen (204). Um den Weg zwischen genügender Immunsuppression zur Verhinderung von Abstoßungsreaktionen

und der ausreichenden Funktion des Immunsystems zur Vermeidung von Infekten zu finden, wurde eine ständige Überwachung, "ein Monitoring", eingeführt. Durch Bestimmung der prozentualen und absoluten Zahl von T-Lymphozyten im peripheren Blut konnte der Grad der Immunsuppression überwacht werden. Dabei war es mit Hilfe der Rosettentechnik relativ einfach, die T-Lymphozytenzahl zu bestimmen (11). Menschliche T-Zellen besitzen nämlich Rezeptoren für Schafserythrozyten, die sich um einen solchen Lymphozyten rosettenförmig gruppieren. Diese Zellkomplexe konnten dann unter dem Lichtmikroskop leicht gezählt werden. Bei Abstoßungsreaktionen war eine Zunahme der T-Lymphozyten zu beobachten (11, 45). Zusammen mit anderen Hinweisen für eine Abstoßungskrise, wie Herzrhythmusstörungen, Voltage-Verlust im EKG und dem gesamten klinischen Bild, konnten so Abstoßungsreaktionen rechtzeitig erkannt und therapiert werden.

Dieses einfache Monitoring wurde durch die Einführung eines neuen Medikaments, Cyclosporin A, hinfällig (79). Cyclosporin A verminderte nicht mehr die Zellzahl, sondern griff in die Funktion der T-Zell Subpopulationen ein (21). Somit war die Bestimmung der T-Lymphozytenzahl wertlos geworden. Nicht die Anzahl der Thymozyten, sondern ihr Funktions- bzw. Aktivierungszustand war für die Beurteilung des Immunsystems bedeutsam geworden.

Hammer entwickelte eine Methode, den funktionellen Zustand des Abwehrsystems durch cytologisch-morphologische Untersuchungen zu erschließen (79). Es zeigte sich, daß Lymphozyten bei Kontakt mit Antigenen zu Lymphoblasten, großen proliferierenden Zellen, transformiert wurden. Da diese aktivierten Zellen, die im mononukleären Konzentrat des peripheren Blutes leicht erkannt werden konnten (8), bei fast allen Abstoßungsreaktionen nachzuweisen waren, während sie in Ruheperioden fehlten, konnten sie als wichtiges Indiz für eine Abstoßungsreaktion gelten. Es stellte sich jedoch heraus, daß diese Lymphoblastogenese nicht nur bei Abstoßungskrisen auftrat. Vielmehr antwortete das Immunsystem eines Transplantatempfängers auf jeden massiven Antigenreiz, wie bakterielle oder virale Erreger, mit einer solchen Lymphozytentransformation.

Diese Uniformität der lymphozytären Reaktion auf Fremdantigene verringerte die Brauchbarkeit dieses eleganten Monitorings für die klinische Arbeit. Obwohl die Lymphoblasten im peripheren Blut schon nachzuweisen waren bevor der Patient irgendwelche klinische Zeichen einer Abstoßungsreaktion bot, also eigentlich eine sehr frühe Diagnose ermöglichen, mußte doch in den meisten Fällen das Ergebnis einer Herzmuskelbiopsie, die die histologische Verifizierung einer Abstoßungsreaktion brachte, abgewartet werden (12). Eine Abstoßungstherapie,

die mit hochdosierten Kortikosteroiden durchgeführt wurde, konnte ohne definitiven Beweis für eine Abstoßung nicht begonnen werden, da diese immunsuppressive Maßnahme im Falle einer Infektion, insbesondere viraler Genese, zu deletären Folgen geführt hätte.

Aufgrund dieser Sachlage versuchten wir festzustellen, ob

erstens: diese hochsensitive Lymphoblastogenese bei Antigenstimulation im peripheren Blut bestätigt werden konnte und ob

zweitens: durch weiterführende cytologische und immunologische Untersuchungen im peripheren Blut zwischen der Lymphoblasten-Vermehrung bei Abstoßungskrisen und derjenigen bei bakteriellen Infektionen und derjenigen bei viralen Infektionen differenziert werden konnte.

2. P A T I E N T E N U N D M E T H O D I K

2.1. Patienten

Von August 1983 bis Juli 1984 wurden an der Herzchirurgischen Klinik im Klinikum Großhadern insgesamt 13 Herztransplantationen und eine Herz-Lungen-Transplantation durchgeführt.

Alle Transplantatempfänger waren männlich. Der jüngste Transplantierte war 20, der älteste 40 Jahre alt. Das mittlere Patientenalter betrug $36,5 \pm 10,1$ Jahre.

Grunderkrankungen der Empfänger (Tab.1)

Alle zur Herztransplantation anstehenden Patienten litten an einer dekompensierten Kardiomyopathie im Stadium III-IV nach der NYHA Klassifikation. Bei sechs Patienten war die Herzinsuffizienz auf dem Boden einer koronaren Herzerkrankung und/oder von durchgemachten Myokardinfarkten entstanden. Bei weiteren sechs Patienten wurde eine primäre dilatative Kardiomyopathie diagnostiziert, ohne daß eine Grunderkrankung nachweisbar war. Ein Empfänger war herzinsuffizient mit Dilatation beider Ventrikel, nachdem er bereits einige Jahre zuvor künstliche Mitral- und Aortenklappen erhalten hatte. Bei einem 20 Jahre jungen Mann, der an einem

primären pulmonalen Hypertonus unklarer Genese litt, wurde eine Herz-Lungen-Transplantation durchgeführt.

Tabelle 1: Grundkrankheiten, Alter und Therapie der Patienten

Name	Grunderkrankung	Alter	Therapie
H.E.	Dilatative CMP	42	HTP
F.G.	Ischämische CMP	43	HTP
S.M.	Dilatative CMP	37	HTP
R.J.	Dilatative CMP	47	HTP
F.L.	Dilatative CMP	36	HTP
M.U.	Dilatative CMP	34	HTP
G.G.	Ischämische CMP	41	HTP
W.W.	Dilatative CMP	24	HTP
S.F.	Ischämische CMP	35	HTP
V.G.	Ischämische CMP	50	HTP
K.S.	Ischämische CMP	45	HTP
H.H.	Ischämische CMP	39	HTP
L.A.	Pulmonale Hypertonie	21	H-L-TP
R.L.	Dilatative CMP	20	HTP

Kriterien zur Spendereignung

Spender und Empfänger mußten in Körpergröße und Gewicht ähnlich und in ihren ABO-Blutgruppen kompatibel sein.

Zusätzliche Bedingungen für die Spenderauswahl waren ein Alter unter 50 Jahren und das Fehlen von systemischen Krankheiten. Außerdem durfte der Spender keine Anzeichen einer Infektion aufweisen und sein Kreislauf mußte vor Organentnahme ohne oder mit nur geringen Katecholamindosen auskommen.

Ein negatives Cross-match zur Vermeidung hyperakuter Abstoßungskrisen durch präformierte Antikörper war die einzige serologische Testung vor Transplantation. Eine HLA-Typisierung wurde nicht vorgenommen.

Als Spender waren junge Patienten mit tödlichen cerebralen Blutungen oder Unfallopfer mit schweren Schädel-Hirn-Traumen geeignet.

2.2. Transplantationstechnik

Nach der Diagnostik des Hirntodes durch einen vom Transplantationsteam unabhängigen Neurologen wurden die Spenderorgane meist in auswärtigen Krankenhäusern explantiert.

Explantation und Organtransport

Nach medianer Sternotomie wurden Aorta und A. pulmonalis sowie obere und untere Hohlvene angeklungen. Die Durchtrennung der oberen Hohlvene führte zur hypotensiven Phase und nachfolgendem Herzstillstand. Anschließend wurde die V. cava inferior und die Aorta deszendens abgeklemmt und nach Instillation von Kirklin'scher Lösung der rechte und linke Vorhof eröffnet. Nach Durchtrennen der Vorhöfe auf Klappenebene konnte das Herz entfernt werden.

Durch Infusion von zwei Liter kardioplegischer Lösung nach Bretschneider wurde das Spenderorgan auf 4°C gekühlt und in einer Kühlbox zum Empfänger transportiert.

Um die kalte Ischämiezeit möglichst kurz zu halten, wurden die Spenderorgane nach München geflogen. Als maximal erreichbare Entfernung galten 1000 Kilometer oder eine Flugzeit von höchstens einer Stunde.

Implantation

Nach medianer Sternotomie des Empfängers und Längsspaltung des Perikards wurde die Herz-Lungen-Maschine angeschlossen. Die ableitenden Kanülen wurden in die obere und untere Hohlvene eingenäht, das arterialisierte Blut in die Aorta aszendens unmittelbar distal der Aortenklappe eingeleitet. Das Blut wurde im extrakorporalen Kreislauf so lange abgekühlt, bis die distale Ösophagus-temperatur, die der Kerntemperatur entsprach, 30°C erreichte. Zu diesem Zeitpunkt wurden die Aorta und die A. pulmonalis abgeklemmt und durchtrennt und das Herz auf Vorhofebene abgesetzt. An den so präparierten Situs wurden die Spenderventrikel angenäht. Beginnend mit dem linken und rechten Vorhof wurde die A. pulmonalis und schließlich die Aorta mit dem Spenderherzen verbunden. Nach Entlüften des linken Ventrikels und langsamer Erhöhung der Bluttemperatur im extrakorporalen Kreislauf nahm das implantierte Herz meist spontan die Tätigkeit auf. Kam es nicht zu selbständigen koordinierten Kontraktionen, wurde das Herz unter Katecholamingabe defibrilliert, worauf dann die Herzaktionen regelmäßig einsetzten. Nach Aufnähen von Schrittmachersonden auf das Epikard und Legen von zwei Thoraxdrainagen wurde der Brustkorb schichtweise verschlossen.

Herz-Lungen-Transplantation

Da Lungengewebe nicht konserviert werden konnte, wurden Explantation und Implantation parallel in zwei benachbarten Operationssälen durchgeführt.

Dem Spender wurde Herz und Lunge en bloc entnommen, wobei das Herz auf Vorhofebene abgesetzt wurde.

Beim Empfänger wurde nach Anschließen der Herz-Lungen-Maschine das Herz ebenfalls auf Vorhofebene entfernt. Die Pneumektomie erfolgte nach Darstellung des N. phrenicus auf beiden Seiten. Danach wurde die Trachea präpariert und einen Ring oberhalb der Carina durchtrennt. Es folgte die End-zu-End Anastomose der Trachea mit der Spenderlunge und Vereinigung der Vorhöfe und der Aorta. Nach Legen von Drainagen wurde der Thorax schichtweise verschlossen.

2.3. Immunsuppression

Immunsuppression nach Herztransplantation

Präoperativ erhielten die Patienten Cyclosporin A (CY-A) in einer Dosierung von 17 mg/kg Körpergewicht. Unmittelbar nach Transplantation wurden 250 mg Methylprednisolon i.v. verabreicht.

Als Basisimmunsuppression wurden 80 mg Prednison, je 40 mg morgens und abends, sowie CY-A appliziert. Die Dosierung von CY-A (200-400 mg, 3 x tgl.) erfolgte anhand der Messungen des Plasmaspiegels, wobei die therapeutische Konzentration von 500-700 ng/ml angestrebt wurde.

Bis zur Entlassung aus der Klinik nach etwa drei Monaten wurde die Prednisondosis successiv auf 25 mg/Tag reduziert. CY-A wurde auch ambulant nach Plasmaspiegel dosiert.

Abstoßungskrisen wurden durch i.v.-Gaben von 1000 mg Methylprednisolon an mindestens drei aufeinander folgenden Tagen behandelt.

Ein Patient erhielt bei einer akuten Abstoßungsreaktion aufgrund einer Kortisonresistenz nach insgesamt 8000 mg Methylprednisolon zusätzlich an drei Tagen jeweils 440 mg Antithymozytenglobulin.

Immunsuppression bei Herz-Lungen-Transplantation

Bei der Herz-Lungen-Transplantation bestand die Immunsuppression ebenfalls aus CY-A, dosiert nach Plasmaspiegel. Jedoch wurde während der ersten 14 Tage Prednison durch Azathioprin ersetzt. Dadurch konnte die Gefahr der Anastomoseninsuffizienz an der Trachealnaht, bedingt durch Wundheilungsstörungen unter Kortikosteroiden, umgangen werden. Zwei Wochen später erfolgte die Immunsuppression analog wie nach einer Herztransplantation.

2.4. Postoperative Überwachung der Patienten

Intensivmedizinische Betreuung

Die postoperative Überwachung erfolgte in einer Sterileinheit der Herzchirurgischen Intensivstation.

Klinische Überwachung

Ein fortlaufend registriertes EKG diente zur Erkennung von Herzrhythmusstörungen. Mit Hilfe einer Rektalsonde wurde ständig die Kerntemperatur gemessen. Ein zentralvenöser Katheter, der in die V. subclavia eingeführt wurde und dessen Spitze sich in der V. cava superior auf Höhe des rechten Vorhofes befand, diente zur raschen Infusion von Volumenersatzmitteln und zur parenteralen Ernährung. Zusätzlich konnte mit diesem Venenkatheter der zentralvenöse Druck kontrolliert werden.

Eine in der A. radialis liegende Kanüle erlaubte die kontinuierliche Messung des arteriellen Blutdrucks und ermöglichte wiederholte Entnahmen arteriellen Blutes zur Bestimmung der Blutgaskonzentrationen.

Röntgenologische Überwachung

Täglich angefertigte Röntgenbilder des Thorax erlaubten die Beurteilung der Herzgröße. Weiterhin konnte damit die Lunge auf Zeichen einer Überwässerung (fluid lung) und auf die Entwicklung einer Pneumonie kontrolliert werden.

Labor-Überwachung

Mehrmals am Tag wurden laborchemische Untersuchungen zur Analyse der Blutzusammensetzung durchgeführt. Das rote und weiße Blutbild wurde kontrolliert, die Serumelektrolytwerte bestimmt. Um die Nierenfunktion unter CY-A beurteilen zu können, wurde die Kreatinin- und Harnstoffkonzentration im Serum gemessen.

Weiterhin erfolgte eine Analyse des Gerinnungsstatus und die Testung von Enzymaktivitäten im Serum (GPT, γ -GT, LDH, CK). Mit Hilfe arteriellen Blutes wurden die Blutgas-Partialdrücke von Sauerstoff und Kohlendioxid gemessen und der Säure-Basenhaushalt kontrolliert.

Mikrobiologische Überwachung

Zusätzlich waren wegen der Infektanfälligkeit der Patienten durch die Immunsuppression ständig mikrobiologische und serologische Untersuchungen erforderlich. So wurden Blut, Sputum, Rachenabstriche und Venekatheter zur frühzeitigen Erkennung von Infektionen auf Keime überprüft.

Histologisch-Pathologische Überwachung

Zur Diagnose von Abstoßungsreaktionen wurden transvenöse Herzmuskelbiopsien entnommen. Dazu wurde unter Röntgenkontrolle eine Herzbiopsiezange nach Caves durch die V. jugularis interna bis in den rechten Ventrikel vorgeschoben und drei bis vier Gewebeproben aus der Herzwand entnommen. Die Aufarbeitung dieser Biopsien und die Diagnosestellung nach den Kriterien von Billingham erfolgten am Institut für Pathologie.

Immunologische Überwachung

Eine täglich durchgeführte Screening-Methode, das cytologisch-immunologische Monitoring (CIM), diente zur fortlaufenden Kontrolle des Immunsystems. Diese neue Methode wird im nächsten Abschnitt ausführlich dargestellt.

2.5. Cytologisch-Immunologisches Monitoring

Untersuchungsprotokoll

Nach erfolgter Herz- bzw. Herz-Lungen-Transplantation wurde das CIM über den Zeitraum von zwei Monaten täglich durchgeführt, nachdem präoperativ ein Ausgangswert bestimmt worden war. Nach Ablauf von zwei Monaten wurde die Kontrollfrequenz auf drei Untersuchungen pro Woche verringert. Zeigte der Patient klinisch eine Verschlechterung oder traten im CIM auffällige Ergebnisse auf, wurde das CIM wieder täglich durchgeführt.

Differentialblutbild und Leukozytenwerte

10 ml frisches venöses Blut wurden durch Zugabe von 0,1 ml Heparin ungerinnbar gemacht. Davon wurden zwei Blutaussstriche angefertigt und nach Pappenheim wie folgt gefärbt:

1. Drei Minuten in May-Grünwald-Lösung. Diese enthält eosinsaures Methylenblau in Methanol: Glycerin (1:1).
2. Abspülen mit Aqua dest.
3. Eine halbe Stunde Färbung in Giemsa-Lösung, 1:20 verdünnt, bestehend aus Azur II in Methanol:Glycerin (1:1)
4. Abspülen mit Aqua dest.
5. Lufttrocknen

Von diesen Blutaussstrichen wurden jeweils 200 Zellen ausgezählt.

Die Leukozytenzahl/mm³ wurde mit einem Clay-Adams-Hematology-Analyser(a) ermittelt und der Mittelwert errechnet.

Mononukleäres Konzentrat

Das restliche Heparinblut wurde vorsichtig über einen Ficoll-Gradienten der Dichte 1,077 (b) in zwei Reagenzgläser geschichtet. Diese wurden für 20 Minuten mit 2700 U/min. und ausgeschalteter Bremse zentrifugiert (c). Durch diese Bearbeitung erhielt man eine vertikale Auftrennung der korpuskulären Blutbestandteile.

Der in der Interphase abzentrifugierte Ring, bestehend aus mononukleären Zellen (Lymphozyten und Monozyten) wurde mit einer Pasteurpipette abgehoben, in ein neues Reagenzglas gegeben und durch 10 minütige Zentrifugation (c) mit 1300 U/min. von Ficollresten freigewaschen. Der Überstand wurde

(a) Clay Adams Laboratory, USA

(b) Ficoll-Isopaque Lösung 1,077 g/ml, Apotheke
der klinischen Universitätsanstalten München

(c) Zentrifuge: Firma Andreas Hettich, Postfach
391, 7200 Tuttlingen

dekantiert, die Zellen am Reagenzglasboden nun ein zweites Mal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Die von Verunreinigungen weitgehend freie Zellsuspension wurde in ca. zwei Milliliter 0,9 % NaCl-Lösung aufgenommen.

Zytozentrifugenpräparate

Je 20-100 µl dieser Suspension wurden in eine Zytozentrifuge (d) pipettiert. Zwei bis sechs Zytozentrifugenpräparate wurden angefertigt (500 U/min., 5 min.). Diese Präparate wurden wie die Blutausstriche nach Pappenheim gefärbt und 200-500 Zellen differenziert.

Fluoreszenzmikroskopie

Subpopulationen der mononukleären Zellen wurden mittels fluoreszeinkonjugierter Antikörper markiert. Bei der indirekten Immunfluoreszenz (Sandwich-Methode) wurde in Stufe eins das zellständige Antigen durch monoklonale Antikörper besetzt. Diese von der Maus gewonnenen, hochspezifischen Antikörper wurden mit den mononukleären Zellen für mindestens eine halbe Stunde inkubiert.

(d) Zytozentrifuge mit Küvetten, Cytospin II,
Shandon, Labortechnik GmbH, Frankfurt

Anschließend wurde durch Waschen mit isotoner NaCl-Lösung nicht gebundener Antikörper entfernt.

Im zweiten Schritt ließ man einen FITC (Fluorescein-thiocyanat) markierten Anti-Maus- γ -Globulin-Antikörper (e) mit dem zellständigen Antikörper reagieren. Nach einer Inkubationszeit von einer halben Stunde konnte der ungebundene Zweitantikörper durch Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung entfernt werden. Jetzt war es möglich, fluoreszierende (positive) und nicht fluoreszierende (negative) Zellen unter dem Immunfluoreszenzmikroskop zu unterscheiden.

Im Immunfluoreszenzmikroskop (f) wurden durch Filter (g) nur diejenigen Wellenlängen des von einer Halogenlampe (h) erzeugten Lichts über einen Öl-Dunkelfeldkondensor (i) zum Untersuchungsobjekt

(e) Goat Anti-Mouse IgG-FITC, Code No. 6250, Tago
Inc. Burlinghane, CA 94010 USA

(f) Zeiss-Universal-Fotomikroskop, Carl Zeiss,
7082 Oberkochen

Objektive: Ph 2, Plan 40/0,65; 160/0,17

Neofluar 40/0,75; 160/0,17

(g) KP 500 Kurzpassfilter; BG Rotfilter

(h) Halogenlampe 12 V 100 Watt

(i) Zeiss-Kondensor 1.2/1.4

durchgelassen, die der fluoreszierende Farbstoff absorbieren konnte. Das an den Zelloberflächen gebundene FITC wandelte das eingestrahlt Licht in längerwelliges grünes Licht um, während unmarkierte Zellen keine Eigenfärbung aufwiesen. Als positiv wurden Zellen gewertet, die mindestens drei fluoreszierende Lichtpunkte an ihrer Zellmembran trugen. Pro untersuchtem Oberflächenantigen wurden 100 Zellen ausgezählt, bei auffälligen Ergebnissen 200 Zellen.

Im einzelnen wurden folgende monoklonale Antikörper verwendet:

Die gesamten peripheren T-Lymphozyten wurden mit Hilfe von OKT 3 (k) bestimmt.

Eine Subpopulation dieser T-Lymphozyten, die Helferzellen wurden durch OKT 4 (k) markiert.

OKT 8 (k) war gegen Suppressor- und Zytotoxische Zellen gerichtet.

Vorläuferzellen und aktivierte Zellen konnten durch Inkubation mit OKT 10 (k) identifiziert werden.

Den Erythrozyten-Rosetten-Rezeptor von T-Zellen markierte OKT 11 (k).

(k) Warenbezeichnung der Firma Ortho Pharmaceutical Corporation, Raritan, New Jersey 08869 USA.

Die Antikörper werden unter der Bezeichnung Orthoclone angeboten.

Zum Nachweis von Ia-Antigenen, die von den Lymphozyten die B-Zellen und die aktivierten T-Zellen trugen, wurde der monoklonale Antikörper 5202 (1) verwendet.

(1) Warenbezeichnung der Firma "Oy Medix Ab" PB
819 SF 00101 Helsinki 10, Finnland
Cat. No. 5202 M 101

2.6. Berechnungen

1. Lichtmikroskopisch unterscheidbare Lymphozyten-
untergruppen, zu denen die Lymphozyten, die Lympho-
blasten und die Large Granular Lymphocytes gezählt
werden konnten, wurden quantitativ als Zellen pro
 mm^3 berechnet. Dazu bestimmte man den prozentualen
Anteil der Lymphozyten im Blutaussstrich. Wurde
dieser Wert mit den gesamten Leukozyten pro mm^3
multipliziert, erhielt man die absolute Konzen-
tration von Zellen der lymphatischen Reihe pro
 mm^3 . Betrug zum Beispiel der Anteil der lymphati-
schen Zellen im Differentialblutbild 20% und
die Leukozytenzahl 10000 pro mm^3 , ergab sich ein
Gesamt-Lymphozytenwert von 2000 Lymphozyten pro
 mm^3 . Diese Gesamtlymphozytenzahl wurde gleich 100%
gesetzt.

Um die absolute Konzentration einer Lymphozyten-
Subpopulation zu erhalten, wurde nun deren pro-
zentualer Anteil an allen Lymphozyten im mono-
nukleären Konzentrat bestimmt. Multiplizierte man
diesen Prozentwert mit der Gesamtlymphozytenzahl,
so bekam man die absolute Konzentration in Zellen
pro mm^3 einer Lymphozyten-Subpopulation. Waren
zum Beispiel 10% aller Lymphozyten lichtmikros-
kopisch einer bestimmten Untergruppe zuzuordnen
und betrug die Gesamtlymphozytenzahl 2000 pro mm^3 ,
so ergab sich eine Konzentration dieser Lympho-
zyten-Subpopulation von 200 Zellen pro mm^3 .

2. Zu den lichtmikroskopisch nicht unterscheidbaren Zellen, die sich nur aufgrund ihrer unterschiedlichen Oberflächen-Antigenstruktur mit immunfluoreszenzmikroskopischen Methoden differenzieren ließen, gehörten die B- und T-Lymphozyten, die Helfer-, Suppressor- und Zytotoxischen Zellen, die aktivierten- und Vorläuferzellen. Hier wurde der prozentuale Anteil an den gesamten Lymphozyten berechnet. Es wurde somit angegeben, wieviele Prozent aller Lymphozyten ein bestimmtes Antigen auf ihrer Oberfläche trugen.

Diese auf die dargestellte Weise errechneten absoluten bzw. relativen Werte, wurden in den nachfolgend unter "Ergebnissen" demonstrierten Kurvenverläufen in ihren zeitlichen Veränderungen aufgetragen. Dazu wurde ein zeitlicher Fixpunkt gesucht, auf den die Darstellungen aller Verlaufskurven bezogen werden konnten. Da die immunologischen Reaktionen, wie z.B. die Abstoßungsreaktionen, bei allen Patienten zu verschiedenen Zeitpunkten auftraten, hätten sich die bei jedem Patienten feststellbaren Verschiebungen zwischen den untersuchten Zellpopulationen bei linearzeitlicher Darstellung "herausgemittelt". Deshalb wurde als Bezugspunkt für alle Darstellungen der "Tag 0" eingeführt. Dieser "Tag 0" ist der Zeitpunkt, an dem erstmals eine Konzentration von mindestens 40 Lymphoblasten pro mm^3 zu finden war.

Es hatte sich nämlich im Verlauf dieser und früherer Untersuchungen gezeigt, daß klinisch relevante Inflammationen, gleich ob Abstoßungsreaktion oder Infektion, nicht unter einer Lymphoblastenkonzentration von etwa 40 pro mm^3 in Erscheinung traten. Um den Verlauf der Parameter zu beurteilen, wurden die Werte von Tag -4 über Tag 0 bis zum Tag +4 errechnet und aufgezeichnet.

Statistik

Die Darstellung der Ergebnisse erfolgte durch den Median $\bar{x}$. Auf die Abbildung von Einzelwerten wurde aus Gründen der Übersichtlichkeit verzichtet.

Der Median $\bar{x}$ (Zentralwert) ist der Wert, der von höchstens der Hälfte aller Werte unterschritten und von höchstens der Hälfte aller Werte überschritten wird. Er ist gegen Ausreißer relativ unempfindlich.

Die statistisch korrekte Angabe von Mittelwerten und Standardabweichung war wegen der teilweise geringen Fallzahlen und wegen fehlender Normalverteilung nicht möglich.

Beim angewandten Rangsummentest von Wilcoxon, Mann und Withney wurden zwei Stichproben miteinander verglichen. Ein Ergebnis wurde dann als signifikant bezeichnet, wenn das Signifikanzniveau mindestens fünf Prozent betrug, also die gemachte Aussage mit mindestens 95 prozentiger Sicherheit nicht auf zufälligen Schwankungen beruhte.

3. E R G E B N I S S E

Klinischer Verlauf

In Tabelle 2 sind die Überlebenszeiten, die Anzahl der akuten Abstoßungsreaktionen bzw. Infektionen, sowie die Todesursachen aufgeführt.

Zwei Herzempfänger (G.G., H.H.) starben intraoperativ bzw. drei Tage postoperativ an akutem Rechtsherzversagen. Immunologische Reaktionen traten in dieser Zeit nicht auf.

Ein Patient (R.L.) hatte während seines stationären Aufenthaltes weder Anzeichen einer Abstoßungsreaktion noch einer Infektion.

Die restlichen 11 Transplantierten bekamen alle mindestens eine Abstoßungskrise, wobei zwei Herzempfänger je zwei und einer sogar vier Abstoßungsreaktionen überlebte.

Bakterielle Infektionen wurden bei vier, virale Infekte bei fünf Patienten beobachtet. Da drei Patienten sogar jeweils zwei Infekte bekamen, konnten insgesamt fünf bakterielle und sieben virale Infektionen diagnostiziert werden.

Zusammen wurden bei unseren 14 Herzempfängern 28 immunologische Komplikationen festgestellt, also pro Patient durchschnittlich zwei.

Name	Überlebenszeit	Immunologische Komplikationen	Todesursache
H.E.	9 Tage	1 AR + 1 BI	AR + BI + Schock
F.G.	18 Monate	1 AR	lebt
S.M.	16 Monate	1 AR + 1 BI	lebt
R.J.	43 Tage	2 AR + 1 BI	Sepsis
F.L.	16 Monate	2 AR + 2 VI	lebt
M.U.	12 Monate	1 AR + 1 VI	lebt
G.G.	3 Tage	----	Herzversagen
W.W.	6 Tage	1 AR	AR
S.F.	11 Monate	1 AR + 1 VI	lebt
V.G.	81 Tage	1 AR + 2 BI	Sepsis
K.S.	209 Tage	4 AR + 2 VI	Virushepatitis
H.H.	0 Tage	----	Herzversagen
L.A.*	9 Monate	1 AR + 1 VI	lebt
R.L.	7 Monate	----	lebt

*Herz-Lungen-Transplantation

Stand: April 1985

3.1. Akute Abstoßungsreaktionen

3.1.1. Diagnose und Klinik von Abstoßungsreaktionen

Von allen transplantierten Patienten (n=14) erlitten acht je eine AR, bei zwei Herzempfängern konnten je zwei, bei einem insgesamt vier AR diagnostiziert werden.

Gesichert wurde die Diagnose einer AR immer durch eine Herzmuskelbiopsie. Die histologischen Zeichen einer akuten AR waren Lymphozyten-, Plasmazellen- und Lymphoblasteninfiltrationen im Herzmuskel, sowie Ödeme und in fortgeschrittenen Fällen Herzmuskelzellnekrosen. Der Schweregrad der Abstoßung wurde nach den Kriterien von Billingham angegeben (12).

Die Abb.1 zeigt, zu welchem postoperativen Zeitpunkt die akuten AR manifest wurden. Die meisten AR konnten zwischen dem vierten und siebten postoperativen Tag diagnostiziert werden. Über die Hälfte (56%) entwickelten sich in diesem Zeitraum. Einen weiteren Häufigkeitsgipfel fand man an den Tagen 12 und 13. An diesen Tagen wurden weitere 25% der AR gesichert. Diese Verteilung macht deutlich, daß innerhalb der ersten beiden Wochen nach Transplantation über 80 % aller akuten AR auftraten.

Wie man auf der Abb.1 erkennen kann, wurden noch drei weitere AR an den Tagen 21, 35 und 45 festgestellt. Diese drei Abstoßungskrisen wurden alle relativ spät bei dem gleichen Patienten (K.S.) manifest. Dieser hatte schon am Tag acht eine AR erlitten. Bereits diese erste AR war trotz massiver Therapie mit Methylprednisolon von insgesamt 8000 Milligramm nicht zu beherrschen gewesen, so daß der Patient für drei Tage je 440 Milligramm Antithymozytenglobulin erhalten hatte.

Wie die Tabelle 3 zeigt, konnten die meisten AR erfolgreich therapiert werden. Lediglich bei einem Patienten (W.W.) führte eine fulminant verlaufende AR, die trotz massiver Therapie nicht supprimiert werden konnte, zum Tode. Ein weiterer Patient (H.E.) verstarb nach neun Tagen im protrahierten Schock mit gleichzeitig bestehender akuter AR.

Somit betrug die Letalität durch AR als Ursache bzw. Mitursache $2/16=12,5\%$.

Tabelle 3: Zeitverteilung und Ausgang
von Abstoßungskrisen

Name	Tag der AR-Diagnose	Ausgang
H.E.	5	exitus letalis
R.J.	5 + 12	erfolgreich therapiert
W.W.	4	exitus letalis
F.L.	7 + 13	erfolgreich therapiert
M.U.	7	erfolgreich therapiert
S.M.	13	erfolgreich therapiert
S.F.	6	erfolgreich therapiert
F.G.	7	erfolgreich therapiert
K.S.	8 + 21 + 35 + 45	erfolgreich therapiert
V.G.	12	erfolgreich therapiert
L.A.	5	erfolgreich therapiert

3.1.2. Ergebnisse im

Cytologisch-Immunologische Monitoring

Auftreten von Lymphoblasten im peripheren Blut

Lymphoblasten sind durch Antigene stimulierte Lymphozyten und unterscheiden sich von den "normalen" Lymphozyten durch einen breiten, basophilen Plasmasaum, eine aufgelockerte Kernstruktur und eine perinukleäre Aufhellung. Außerdem sind sie mit bis zu 25 μm Durchmesser wesentlich größer als reife Lymphozyten mit 7-10 μm Durchmesser (Abb.2).

Bei 87,5 % aller bioptisch gesicherten AR (n=16) der stationären Patienten traten Lymphoblasten (LB) in einer Konzentration von mehr als 40 Zellen pro mm^3 Blut im mononukleären Konzentrat auf (siehe Abb.5).

Lediglich zwei AR, die durch Herzmuskelbiopsien diagnostiziert worden waren, zeigten keine deutlich erhöhte LB-Konzentration. In beiden Fällen waren die Patienten wegen einer zuvor festgestellten AR seit einigen Tagen hochdosiert mit Methylprednisolon behandelt worden. Daraufhin sank die LB-Zahl im peripheren Blut ab, während eine durchgeführte Kontrollbiopsie ein Persistieren der AR zeigte.

Leukozyten

Die Gesamtzahl aller Leukozyten (Abb.6a) bewegte sich zwischen 3000 und über 20000 Zellen pro mm^3 , wobei die Medianwerte zwischen 9300 und 11600 Leukozyten pro mm^3 lagen. Im gesamten dargestellten Zeitraum ergaben sich keine wesentlichen Veränderungen.

Juvenile Zellen

Unreife Zellen der granulopoetischen Reihe, wie die Metamyelozyten und die sogenannten juvenilen Zellen waren normalerweise im peripheren Blut nicht zu finden. Auch bei AR waren, wie in der Abb.7a zu erkennen, lediglich ein bis zwei Prozent aller Zellen des mononukleären Konzentrates diesen Vorläuferstufen zuzuordnen. Im dargestellten Zeitraum von Tag -4 bis zum Tag +4 konnten keine signifikanten Veränderungen festgestellt werden.

Lymphozyten

Die in Bezug auf AR wohl wichtigste Zellform der Leukozyten stellten die Lymphozyten (LZ) dar, da sie bei spezifischen Immunreaktionen durch zelluläre und humorale Mechanismen maßgeblich beteiligt waren. Wie auf der Abb.8a gezeigt ist, ließen die Medianwerte der absoluten LZ-Zahlen von Tag -4 mit 380 Zellen pro mm^3 bis zum Tag 0 mit 950 Zellen pro mm^3 einen Anstieg erkennen, um wieder auf etwa 650 LZ pro mm^3 abzusinken.

Verglich man die LZ-Werte der Tage -2, -1 und 0 mit den LZ-Zahlen nach dem Auftreten von LB an den Tagen +1, +2 und +3, so ergab sich eine signifikante Abnahme ($p < 0,025$). Vor dem Beginn der Aktivierung fand man durchschnittlich 200 LZ pro mm^3 mehr als danach.

Large Granular Lymphocytes

Eine morphologisch differenzierbare Subpopulation der LZ stellten die Large Granular Lymphocytes (LGL) dar. Sie waren durch große, rot leuchtende, azurophile Granula des Zytoplasmas gekennzeichnet (Abb.2). Wie auf der Abb.9a ersichtlich, veränderten sich die LGL bei AR in ihren Absolutwerten kaum. Ihre kleine Zahl schwankte meistens zwischen 10 und 50 Zellen pro mm^3 .

T 3 positive Zellen

Die gesamten peripheren T-LZ konnten mit Hilfe des monoklonalen Antikörpers OKT 3 durch Immunfluoreszenz bestimmt werden. Die Abb.10a macht deutlich, daß meistens etwa die Hälfte aller Lymphozyten der T-Reihe zuzuordnen war. Statistisch faßbare Veränderungen des Prozentanteiles waren, wie schon aus der Abb.10a zu vermuten, nicht vorhanden.

T 4 positive Zellen

Durch weitere monoklonale Antikörper konnte man die eben besprochenen T-Zellen in Subpopulationen differenzieren. Mit OKT 4 war es möglich, die Helferzellen zu bestimmen. Die Medianwerte der prozentualen Anteile dieser Helferzellen bewegten sich bei akuten AR zwischen 20 und 40 von Hundert, ohne daß signifikante Veränderungen nachweisbar waren (Abb.11a).

T 8 positive Zellen

Eine weitere Subpopulation von T-LZ waren die Suppressor- und Zytotoxischen Zellen, die durch OKT 8 markiert werden konnten. Bei AR waren etwa 10 bis 30 Prozent aller LZ dieser Untergruppe zuzurechnen (siehe Abb.12a). Auch hier zeigte der Verlauf keine signifikante Zu- bzw. Abnahme des prozentualen Anteils von allen LZ.

T 4/T 8-Quotient

Verglich man das Verhältnis von Helferzellen und Suppressor-/Zytotoxischen Zellen, die als funktionale Gegenspieler im Ablauf der Immunantwort betrachtet werden konnten, so fand man meist ein Überwiegen der Helferzellen um den Faktor 1,2 bis ca. 2,9. Dieser Quotient war während des gesamten Beobachtungszeitraumes in etwa konstant. Es lagen keine signifikanten Veränderungen vor (Abb.13a).

T 11 positive Zellen

Mit Hilfe eines weiteren monoklonalen Antikörpers (OKT 11) konnten die E-Rosetten-Rezeptoren markiert werden. Diese Antigenstrukturen fanden sich auf den T-Zellen und auf einem Teil der Killerzellen, die körperfremdes Gewebe direkt angreifen können. Der Anteil dieser OKT 11 positiven Zellen an den LZ betrug zwischen dem Tag -4 und dem Tag -1 10 bis 20 Prozent mit abfallender Tendenz. Wie die Abb.14a zeigt, konnte jedoch am Tag 0 ein signifikanter Anstieg ($p < 0,005$) auf Werte um 30 Prozent verzeichnet werden. Im Laufe der nächsten Tage gingen diese hohen Werte wieder auf das Ausgangsniveau zurück.

T 10 positive Zellen

Ein ähnlicher Verlauf mit Ausbildung von Gipfeln konnte bei dem OKT 10 Marker, der Vorläufer- und aktivierte Zellen kennzeichnete, beobachtet werden. Hier stieg der Prozentanteil von weniger als fünf von Hundert, wie er bei unkompliziertem Verlauf gefunden wurde, bereits am Tag -3 auf Werte von ungefähr 10 Prozent an (siehe Abb.15a). Bis zum Tag 0 ergaben sich keine wesentlichen Veränderungen. Ab Tag +1 wurde das Ausgangsniveau wieder in etwa erreicht. Diese Zellfluktuationen konnten auch statistisch gesichert werden ($p < 0,05$).

Ia positive Zellen

Durch Antikörper des Clone 5202 wurden Ia-Rezeptoren besetzt, die sich bei den LZ auf den B-Zellen und den aktivierten T-Zellen befanden. Die Abb.16a zeigt, daß diese Zellen bis zum Tag 0 etwa 5 bis 20 Prozent aller LZ ausmachten, um dann von Tag +1 ab auf Werte bis über 20 von Hundert anzusteigen. Diese Zunahme nach dem Auftreten von LB war hochsignifikant ($p < 0,005$).

T 3/Ia-Quotient

Da der Antikörper Clone 5202 B-Zellen kennzeichnete und die T-Zellen durch OKT 3 bestimmt werden konnten, wurde der Quotient aus diesen beiden Zellmarkern gebildet, um das Verhältnis von T- zu B-Zellen beurteilen zu können. Laut Abb.17a nahmen die Medianwerte dieses Quotienten von Tag -4 bis zum Tag 0 ständig zu, und zwar von etwa 3,5 am Tag -4 bis auf über 5,0 am Tag 0. Im weiteren Verlauf folgte ein kontinuierlicher Abfall bis zum Tag +4 mit einem Quotienten um eins. Dieser Rückgang war hochsignifikant ($p < 0,005$).

ZUSAMMENFASSUNG

Bei AR ergab sich somit folgendes Bild von Zellfluktuationen:

Der erste Hinweis auf eine AR war eine sprunghafte Zunahme T 10 positiver Zellen. Etwa gleichzeitig mit dem Auftreten von LB im peripheren Blut erfolgte ein rascher Anstieg von OKT 11 positiven Zellen. Im weiteren Verlauf fielen die gesamten LZ ab, während sich die Ia positiven Zellen prozentual vermehrten und damit gekoppelt der Quotient aus $T\ 3/Ia$ positiven LZ absank.

3.2. Bakterielle Infektion

3.2.1. Diagnose und Klinik von bakteriellen Infekten

Von vierzehn Patienten bekamen vier insgesamt fünf bakterielle bzw. mykotische Infektionen (BI). Bei zehn Empfängern konnte während des gesamten stationären Aufenthaltes keine BI nachgewiesen werden, drei transplantierte Patienten bekamen je eine, ein Patient sogar zwei BI.

Bakterielle bzw. mykotische Infekte wurden durch wiederholte mikrobiologische Untersuchungen verifiziert. Eine BI wurde nur dann diagnostiziert, wenn der bzw. die Erreger kulturell nachgewiesen werden konnten.

Neben *Klebsiella pneumoniae* (n=2) und *Legionella bozemanii* (n=1) wurde der fakultativ pathogene *Staphylococcus epidermidis* (n=1) gefunden. Weitere Erreger waren *Haemophilus influenzae* (n=1), *Enterococcus* (n=1) und *Enterobacter* (n=1). In zwei Fällen konnte der Pilz *Aspergillus fumigatus* kulturell isoliert werden.

Die Tabelle 4 zeigt eine Aufstellung über die Erreger der jeweiligen Infekte, den Zeitpunkt ihres Auftretens und den Ausgang dieser Infektionen.

Tabelle 4: Zeitraum, Erreger und Ausgang bakterieller
bzw. Pilzinfektionen

Pat.	Tag	Erreger	Ausgang
H.E.	4 - 9	Klebsiella pneumoniae + Enterococcus	Exitus letalis bei AR + Sepsis + Schock
R.J.	27-43	Legionella bozemanii + Aspergillus fumatus	Exitus letalis bei Sepsis
S.M.	3 - 8	Klebsiella pneumoniae + Staph. epidermidis	erfolgreich therapiert
V.G.	4 - 9	Haemophilus influenzae	erfolgreich therapiert
V.G.	45-81	Enterobacter + Aspergillus fumatus	Exitus letalis bei Sepsis

laut Abb.3 traten drei Infekte zwischen dem Tag drei und neun nach Transplantation auf. Von diesen konnten zwei durch massiven Einsatz von Antibiotika, die nach Antibiotogramm ausgewählt wurden, erfolgreich therapiert werden.

Ein Patient verstarb an einer BI, kombiniert mit einer AR und schockbedingtem Multiorganversagen.

Traten die Infektionen erst nach vier bis sieben Wochen auf, waren in beiden Fällen neben bakteriellen Erregern Aspergillen nachweisbar. Beide Infektionen verliefen unter dem Bild einer Sepsis tödlich.

Die Gesamtletalität der BI betrug somit drei von fünf, also 60 Prozent. Insofern stellten BI eine schwerwiegende und therapeutisch schlecht zu behandelnde Komplikation dar.

3.2.2. Ergebnisse im Cytologisch-Immunologischen Monitoring

Auftreten von Lymphoblasten im peripheren Blut

Bei allen bakteriellen/mykotischen Infektionen (BI), die mit Hilfe mikrobiologischer und kultureller Verfahren diagnostiziert worden waren, wurde eine Zunahme von Lymphoblasten im peripheren Blut nachgewiesen. Klinisch relevante BI gingen somit in 100% mit einer peripheren Lymphoblastogenese einher (siehe Abb.5).

Leukozyten

Die Mediane der gesamten Leukozyten bewegten sich in einem Bereich zwischen 9000 und 13000 Zellen pro mm^3 (Abb.6b). Es konnten zwischen dem Tag -3 und dem Tag +4 keine signifikanten Veränderungen der Leukozytenzahlen festgestellt werden. Vom Tag -4 lagen keine Werte vor.

Juvenile Zellen

Einen Hinweis auf eine BI gaben die juvenilen Zellen (Abb.7b). Während sie vor Beginn der Aktivierung nur ca. ein Prozent der Zellen des mononukleären Konzentrates ausmachten, stiegen sie ab Tag +2 auf einen Medianwert von etwa drei Prozent an. Diese Zunahme des Prozentsatzes unreifer Granulozyten war auch statistisch signifikant ($p < 0,01$).

Lymphozyten

Betrachtet man die Abb.8b, erkennt man einen Anstieg der Medianwerte aller Lymphozyten. Ausgehend von 400 Zellen pro mm^3 am Tag -4, erreichten sie den höchsten Stand am Tag +2 mit 1000 Zellen pro mm^3 . Vergleich man die Lymphozytenzahlen der Tage -2 bis 0 mit den Werten der Tage +1 bis +3, ergab sich eine signifikante Vermehrung der quantitativen Lymphozyten-Menge ($p < 0,05$).

Large Granular Lymphocytes

Eine Subpopulation der Lymphozyten waren die LGLs (siehe Abb.9b). Ihre absolute Zahl bewegte sich von Tag -4 bis zum Tag +4 ungefähr zwischen 0 und 50 Zellen pro mm^3 . Die quantitativen LGL-Werte zeigten im gesamten Zeitraum keine statistisch faßbaren Veränderungen.

T 3 positive Zellen

Eine weitere Lymphozyten-Untergruppe stellten die T-Zellen dar. Wie in Abb.10b gezeigt, machten sie etwa 2/3 aller Lymphozyten aus. Die Medianwerte schwankten von etwa 60 % am Tag -3 bis zu über 90 % am Tag +2. Diese Zunahme war jedoch statistisch nicht zu sichern. Von den Tagen -4 und -2 lagen keine Werte vor.

T 4 positive Zellen

Die T-Zellen konnten mit Hilfe monoklonaler Antikörper in weitere Subpopulationen untergliedert werden. Etwa 30 bis 60 Prozent aller Lymphozyten waren Helferzellen, die durch den OKT 4 Marker gekennzeichnet wurden. Der in Abb.11b gezeigte Kurvenverlauf wies keine signifikanten Zu- bzw. Abnahmen auf.

T 8 positive Zellen

Der immunologische Gegenspieler der Helferzellen waren die Suppressorzellen. Diese und die Zytotoxischen Zellen konnten mit OKT 8 bestimmt werden. Ihr Prozentanteil an den Lymphozyten lag zwischen 20 und 40 Prozent (siehe Abb.12b). Vom Tag -3 bis zum Tag +4 waren keine signifikanten Veränderungen nachzuweisen. Vom Tag -4 fehlten die Werte.

T 4/T 8-Quotient

In Abb.13b ist das Verhältnis der beiden zuletzt dargestellten Lymphozyten-Subpopulationen aufgetragen. Der Kurvenverlauf zeigt, daß vom Tag -2 bis zum Tag +4 immer die Helferzellen über die Suppressor- und Zytotoxischen Lymphozyten dominierten. Die Medianwerte bewegten sich zwischen 1,3 und 2,3. Signifikante Zu- bzw. Abnahmen dieses T 4/T 8-Quotienten konnten in dem untersuchten Zeitraum nicht gefunden werden.

T 11 positive Zellen

Durch OKT 11 wurden T-Zellen, die E-Rezeptoren auf ihrer Oberfläche trugen, markiert. Wie in Abb.14b ersichtlich, betrug der Anteil der OKT 11 positiven Zellen an den Tagen -3 bis -1 circa 15 bis 20 Prozent aller Lymphozyten. Danach fiel dieser Prozentwert ständig bis auf unter 10 Prozent am Tag +3 ab. Vergleich man die Prozentzahlen an den Tagen -2 bis 0 mit denen an den Tagen +1 bis +3, so nahmen sie signifikant ab ($p < 0,05$).

T 10 positive Zellen

Die Medianwerte der OKT 10 positiven Lymphozyten in Abb.15b stiegen von zwei Prozent am Tag -3 auf 12 Prozent am Tag +1 an. Diese Zunahme war trotz der relativ wenigen Einzelwerte deutlich signifikant ($p < 0,05$).

Ia positive Zellen

Neben den T-Lymphozyten waren die B-Zellen, deren Ia-Antigene durch Clone 5202-Antikörper identifiziert wurden, wesentlich an der immunologischen Reaktion gegen bakterielle Erreger beteiligt. Wie die Abb.16b zeigt, wurden bereits vor dem Tag 0 ungefähr 20 bis 30 Prozent aller Lymphozyten vom Clone 5202-Antikörper besetzt, während dieser Anteil von Tag +2 bis +4 auf unter 20 von Hundert zurückging. Diese Zellfluktuationen waren jedoch nicht signifikant.

T 3/Ia-Quotient

Verglich man die Anzahl der OKT 3 markierten Zellen mit dem Prozentanteil der Ia tragenden Zellen, die überwiegend der B-Reihe angehörten, so fand man ein T-Zell Übergewicht um den Faktor zwei bis fünf. Da die T 3-Werte ab Tag +2 leicht anstiegen (Abb.10b), dagegen der Anteil Ia positiver Zellen zurückging (Abb.16b), erklärte sich die Zunahme des T 3/Ia-Quotienten ab Tag +2. Diese war jedoch wegen der geringen Zahl von Einzelwerten nicht signifikant (Abb.17b).

ZUSAMMENFASSUNG

Bakterielle- bzw. Pilzinfektionen wurden durch folgende Zellfluktuationen charakterisiert:

Etwa zum gleichen Zeitpunkt, an dem Lymphoblasten im peripheren Blut erschienen, nahmen die unreifen und Vorläuferzellen prozentual zu. In den nächsten Tagen kam es zu einem Anstieg der gesamten Lymphozyten, während der Anteil der T 11 positiven Zellen zurückging. Es folgte die vermehrte Ausschüttung unreifer granulopoetischer Vorstufen aus dem Knochenmark.

3.3. Virusinfektionen

3.3.1. Diagnose und Klinik von Virusinfektionen

Bei fünf der 14 transplantierten Patienten traten insgesamt sieben Virusinfektionen (VI) auf, die durch spezifischen Antikörpernachweis belegt werden konnten. Drei Empfänger erkrankten je an einem, zwei Transplantierte an je zwei VI.

Die exakte Diagnose einer VI war im akuten Stadium meist unmöglich. Deshalb wurde in einer Ausschlußdiagnostik eine VI dann angenommen, wenn der Patient klinische Zeichen einer Entzündung, wie erhöhte Temperatur und allgemeine Krankheitssymptome bot, jedoch Herzmuskelbiopsie und mikrobiologischer Erregernachweis keinen Anhalt für eine akute Abstoßungsreaktion oder einen bakteriellen/mykotischen Infekt zeigten.

Beweisend für virale Infekte waren serologisch nachweisbare Antikörper, die vor Erkrankungsbeginn nicht zu finden waren. Entdeckte man dagegen schon vor Transplantation Antikörper gegen bestimmte Viren, so konnte nur ein Titeranstieg um mindestens zwei Stufen (entspricht einer Vervierfachung) oder das Auftreten von IgM-Antikörpern als Beweis für eine frische VI angesehen werden.

Laut Tabelle 5 wurde dreimal eine Cytomegalievirus Infektion diagnostiziert. In zwei Fällen ließ sich eine Epstein-Barr-Virus Infektion nachweisen. Die

restlichen zwei Infekte wurden durch Hepatitis A und Herpes simplex Viren verursacht.

Wie aus der Abb.4 ersichtlich, verliefen vier VI zwischen dem Tag 15 und 45. Weitere VI wurden erst nach dem Ablauf von fast zwei Monaten manifest. Ein Patient (K.S.) erlitt zwei VI mit verschiedenen Erregern kurz nacheinander, nachdem er zuvor wegen rezidivierender Abstoßungsreaktionen insgesamt 19000 Milligramm Methylprednisolon und 1320 Milligramm Antithymozytenglobulin erhalten hatte. Er verstarb am 209. postoperativen Tag an einer Virushepatitis.

Alle anderen VI wurden überlebt. Die Letalität betrug somit eins von sieben, also 14 Prozent.

Tabelle 5: Zeitpunkt des Auftretens, Erreger und Ausgang von viralen Infektionen

Name	Zeitraum	Erreger	Ausgang
F.L.	26 - 40	Cytomegalie Virus	erfolgreich therapiert
F.L.	58 -106	Cytomegalie Virus	erfolgreich therapiert
M.U.	15 - 45	Hepatitis A Virus	erfolgreich therapiert
S.F.	17 - 43	Herpes simplex Virus	erfolgreich therapiert
K.S.	54 - 61	Epstein-Barr Virus	erfolgreich therapiert
K.S.	70 -101	Cytomegalie Virus	Exitus letalis
L.A.	27 - 38	Epstein-Barr Virus	erfolgreich therapiert

3.3.2. Ergebnisse im Cytologisch-Immunologischen Monitoring

Auftreten von Lymphoblasten im peripheren Blut

Bei allen Virusinfektionen, die serologisch durch entsprechende Antikörper-Titer diagnostiziert wurden, waren Lymphoblasten in einer erhöhten Konzentration im peripheren Blut nachweisbar. Die Lymphoblastogenese war somit bei 100 Prozent aller viralen Infekte eindeutig vermehrt (Abb.5).

Leukozyten

Die Mediane der gesamten Leukozyten bewegten sich von Tag -4 bis Tag +4 in einem Bereich zwischen 7000 und 9000 Zellen pro mm^3 (siehe Abb.6c). Es wurden keine statistisch signifikanten Veränderungen gefunden.

Juvenile Zellen

Auch bei den jugendlichen bzw. unreifen Zellen der Granulopoese konnte keine statistisch gesicherte Zu- oder Abnahme des prozentualen Anteils an den Zellen des mononukleären Konzentrates eruiert werden, obwohl die Medianwerte von ein bis zwei Prozent an den Tagen -4 bis -1 auf Werte um drei Prozent an den Tagen 0 bis +4 angestiegen waren (Abb.7c).

Lymphozyten

Dagegen wiesen die absoluten Lymphozytenzahlen schon an den Tagen -4 bis -1 mit Medianwerten von 1200 bis 1300 Zellen pro mm^3 ein hohes Niveau auf (Abb.8c). Die Gesamtkonzentration erreichte im weiteren Verlauf an den Tagen +1 bis +4 mit Medianen von 1600 bis 1800 Lymphozyten pro mm^3 sehr hohe Werte. Diese Zunahme war signifikant ($p < 0,05$).

Large Granular Lymphocytes

Auch die absolute Zahl von LGLs war bei VI bereits an den Tagen -4 bis -2 mit etwa 100 Zellen pro mm^3 erhöht. Bis zum Tag 0 stiegen dann die quantitativen LGL-Werte bis auf fast 300 Zellen pro mm^3 signifikant ($p < 0,05$) an. In den nächsten Tagen erfolgte zwar ein Rückgang dieser Spitzenwerte, die Mediane lagen jedoch weiterhin zwischen 150 und über 200 LGLs pro mm^3 (Abb.9c).

T₃ positive Zellen

Dagegen ergaben sich bei den gesamten peripheren T-Zellen kaum größere Fluktuationen. Wie die Abb.10c zeigt, schwankten die Medianwerte des Prozentanteils der T-Zellen an allen Lymphozyten zwischen 50 und 70 von Hundert. Dieses Anteilsniveau blieb von Tag -4 bis +4 weitgehend konstant.

T 4 positive Zellen

Auch eine Subpopulation der T-Zellen, die OKT 4 markierten Helferzellen, stellten einen relativ konstanten Anteil aller Lymphozyten dar. Wie in der Abb.11c zu sehen, variierte der Medianwert der Helferzellen zwischen 10 und 40 Prozent. Eine statistisch signifikante Zu- oder Abnahme dieser Lymphozytenuntergruppe konnte nicht festgestellt werden.

T 8 positive Zellen

Bei einer weiteren Subpopulation der T-Lymphozyten, den Suppressor- und Zytotoxischen Zellen, waren ebenfalls keine größeren Veränderungen der Medianwerte nachweisbar. Hier lag der Median der OKT 8 positiven Zellen bei 30 bis etwa 50 von Hundert. Der auf der Abb.12c ersichtliche Gipfel um den Tag 0 war statistisch nicht zu verifizieren.

T 4/T 8-Quotient

Bildete man den Quotienten aus Helferzellen und Suppressor-/Zytotoxischen Lymphozyten, so ergab sich folgende, in Abb.13c gezeigt Kurve. Von Tag -4 bis Tag +4 schwankten die Medianwerte immer nur wenig über bzw. unter 1,0. Die Tendenz nach dem Tag 0 war eher noch sinkend. Bei VI fehlte somit das sonst übliche Überwiegen der OKT 4 über die OKT 8 positiven Zellen.

T 11 positive Zellen

Die Medianwerte der OKT 11 positiven Lymphozyten variierten an den Tagen -4 bis -2 in einem Bereich von 12 bis 20 Prozent, um dann auf über 30 von Hundert anzusteigen ($p < 0,01$). Im weiteren Verlauf (Tage +1 bis +3) verringerten sich die prozentualen Anteile der E-Rezeptor tragenden Zellen wieder auf ungefähr ein Fünftel (siehe Abb.14c). Bis zum Tag +4 bewegte sich dann der Medianwert auf das Ausgangsniveau von ca. 15 Prozent zurück.

T 10 positive Zellen

Einen ähnlichen Verlauf mit Ausbildung eines Gipfels um die Tage 0 und +1 zeigten die Vorläufer- und aktivierten Lymphozyten in Abb.15c. Während ihr Anteil an den Tagen -4 bis -2 lediglich zwei Prozent betrug, nahm er bis zum Tag +1 auf ca. 10 von Hundert zu. Dieser signifikante Anstieg ($p < 0,05$) war ab Tag +2 wieder rückläufig, um an den folgenden Tagen etwa vier Prozent zu erreichen.

Ia positive Zellen

Der Prozentsatz der Clone 5202 positiven, d.h. Ia-Antigene tragenden Zellen, machte schon ab Tag -3 über 20 Prozent aus (siehe Abb.16c). Dieser Anteil vergrößerte sich von Tag +1 ab auf ca. 30 von Hundert, die Zunahme war jedoch statistisch nicht signifikant.

T 3/Ia-Quotient

Verglich man das Verhältnis der OKT 3 mit den Clone 5202 positiven Lymphozyten, so erkannte man ein Überwiegen der T-Zellen um den Faktor zwei bis drei. Dieses Vorherrschen der T-Lymphozyten war während des gesamten Beobachtungszeitraumes weitgehend konstant. Größere Schwankungen des T 3/Ia-Quotienten waren nicht zu beobachten (Abb.17c).

ZUSAMMENFASSUNG

Der prozentuale Anstieg T 11 positiver Zellen war der erste Hinweis für eine beginnende VI. Etwa simultan mit der Vermehrung der LGLs traten Lymphoblasten im peripheren Blut auf. Einen Tag später erfolgte die Zunahme der unreifen und aktivierten Zellen bei gleichzeitig zunehmender Lymphozytose.

3.4. Differentialdiagnose zwischen
Abstoßungsreaktionen,
bakteriellen und viralen Infektionen
mit Hilfe des CIM

Alle unter Punkt 3.1. bis 3.3. untersuchten Parameter wurden darauf geprüft, ob signifikante Unterschiede zwischen AR, BI und VI zu finden waren.

Leukozyten

Bei den Leukozyten ließ sich im gesamten Zeitraum von Tag -4 bis Tag +4 kein signifikanter Unterschied zwischen den verschiedenen Aktivierungsursachen nachweisen. Die Leukozytenwerte (Abb.6) gaben keinen Hinweis auf die Ursache der Lymphoblastogenese.

Juvenile Zellen

Ebenso war auch bei einer Untergruppe der Granulozyten, den unreifen und juvenilen Zellen, keine signifikante Differenz zwischen AR, BI und VI festzustellen (Abb.7).

Lymphozyten

Die absoluten Lymphozytenwerte zeigten dagegen differentes Verhalten.

Die quantitativen LZ-Zahlen lagen bei VI deutlich über denen bei AR und BI, woraus sich für die beiden Differentialdiagnosen VI-AR und VI-BI im gesamten Zeitraum signifikante Unterschiede ergaben.

Werte von mehr als 1000 LZ pro mm^3 sprachen für eine VI, waren weniger als 1000 LZ pro mm^3 zu finden, so war eine AR oder BI anzunehmen. Dies galt vom Tag -4 bis zum Tag +4 (Abb.8).

Zwischen AR und BI konnten keine signifikant verschiedenen LZ-Konzentrationen aufgezeigt werden.

Lymphoblasten

Das Auftreten von Lymphoblasten war das eigentliche Leitkriterium für eine Aktivierung des Immunsystems. Die Abb.5 zeigt die Lymphoblastenkonzentrationen pro mm^3 Blut unter verschiedenen pathologischen Bedingungen. Während bei unkompliziertem Verlauf höchstens 30 Lymphoblasten pro mm^3 gefunden werden konnten, traten bei Inflammationen Lymphoblastenwerte bis zu 850 Zellen pro mm^3 auf. Ihre Konzentration ließ jedoch keinen Rückschluß auf die Ursache dieses Anstieges zu.

Large Granular Lymphocytes

Eine ähnliche Konstellation wie bei den gesamten Lymphozyten fand sich bei den LGLs.

Der Vergleich von AR und BI zeigte keine signifikante Differenz (Abb.9).

Dagegen war die Abgrenzung von VI gegenüber AR und auch gegenüber BI sehr sicher möglich. Wie man in der Abb.9 unschwer erkennen kann, waren die LGL-Werte bei VI deutlich von denen bei AR und BI abgesetzt.

Deshalb konnte eine LGL-Konzentration von mehr als 100 Zellen pro mm^3 als wichtiges Indiz für eine VI gewertet werden, wobei dieses erhöhte Niveau schon vor dem Auftreten von Lymphoblasten (also vor dem Tag 0) nachzuweisen war. Bei BI und vor allem bei AR überschritten die LGL-Zahlen nur selten 50 pro mm^3 .

T 3 positive Zellen

Wie schon beim Vergleich der Abb.10a, b und c zu vermuten, konnten bei den gesamten peripheren T-Zellen nur wenige signifikante Unterschiede zwischen AR, BI und VI nachgewiesen werden.

VI ließen sich zu keinem Zeitpunkt gegenüber AR oder BI abgrenzen.

Dagegen war der Prozentanteil der T-Zellen bei BI gegenüber AR an den Tagen +1 bis +3 signifikant erhöht.

Konnten also an den Tagen +1 bis +3 mehr als 60 Prozent aller Lymphozyten den T-Zellen zugerechnet werden, so war eine BI wahrscheinlich. Fand man weniger als 60 Prozent T 3 positive Zellen, sprachen diese Werte eher für eine AR.

Demgegenüber war eine VI durch diesen Parameter weder zu bestätigen noch auszuschließen (Abb.10).

T 4 positive Zellen

Auch bei den Helferzellen waren signifikante Differenzen nachweisbar.

Bereits an den Tagen -3 bis -1 waren die Werte bei BI signifikant höher als die prozentualen Anteile bei AR. Während, wie auf der Abb.11a ersichtlich, die Mediane bei AR um den Tag 0 anstiegen, gingen sie bei BI zurück (Abb.11b). Deshalb war an den Tagen 0 und +1 kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Aktivierungsursachen zu erkennen. Im weiteren Verlauf an den Tagen +2 bis +4 vergrößerte sich der Abstand der Medianwerte zwischen AR und BI wieder, so daß die beiden Kurven signifikant auseinanderlagen (Abb.11a, b).

Eine BI konnte also an den Tagen -3 bis -1 und an den Tagen +2 bis +4 von einer AR unterschieden werden. Und zwar sprach ein Prozentsatz OKT 4 positiver Zellen von mehr als 35 von Hundert an den angeführten Tagen eher für eine BI als für eine AR.

Weiterhin war es möglich, zwischen BI und VI zu differenzieren. An den Tagen +1 bis +3 konnten bei BI ebenfalls signifikant höhere Werte festgestellt werden. Mehr als 35 Prozent OKT 4 positiver Zellen waren auch hier ein Hinweis für eine BI.

Eine Abgrenzung von AR und VI war mit diesem Parameter nicht möglich (Abb.11).

T 8 positive Zellen

Bei den Suppressor- und Zytotoxischen Zellen war folgendes Verhalten der Prozentwerte zu eruieren (Abb.12):

Eine BI konnte weder von einer AR noch von einer VI differenziert werden.

Dagegen war die Abgrenzung von AR und VI im gesamten Zeitraum von Tag -4 bis +4 möglich.

Während bei AR der Prozentsatz der OKT 8 positiven Lymphozyten kaum mehr als 30 von Hundert betrug, lagen die Werte bei VI meist über diesem Prozentanteil.

T 4/T 8-Quotient

Verglich man den Quotienten der beiden zuletzt besprochenen Parameter OKT 4 und OKT 8, so ergab sich folgendes Bild (Abb.13):

Zwischen AR und BI war zu keinem Zeitpunkt eine Differenz festzustellen, eine Unterscheidung zwischen diesen beiden Aktivierungsursachen war mit Hilfe des T 4/T 8-Quotienten nicht möglich.

Andererseits konnte aber ein Virusinfekt sowohl gegen eine AR als auch gegen eine BI abgegrenzt werden. Der T 4/T 8-Quotient war bei VI signifikant kleiner als bei AR an den Tagen +1 bis +4 und ebenfalls kleiner als bei BI an den Tagen +2 bis +4.

Ein Quotient von weniger als 1,2, d.h. ein nur geringes Überwiegen der Helferzellen über die Suppressor- und Zytotoxischen Lymphozyten, war

an den oben genannten Tagen als Anhalt für eine VI zu sehen. In vielen Fällen kam es bei VI sogar zu einer T 4/T 8-Umkehr, d.h. einem Quotienten von kleiner als 1,0 (Abb.13).

T 11 positive Zellen

Ein weiterer Marker für die T-Zellen war der OKT 11 Antikörper.

Seine Anwendung erlaubte zwischen AR und BI, wohl auch wegen des kleinen Stichprobenumfangs, keine Differenzierung.

Es war lediglich eine Abgrenzung von VI gegen AR und BI am Tag -1 möglich. Hier lagen die Prozentwerte bei VI signifikant höher (Abb.14).

Ein OKT 11 Wert von mehr als 24 Prozent am Tag -1 war somit ein Hinweis für eine VI.

T 10 positive Zellen

Auch bei den Verläufer- und aktivierten Zellen konnten signifikante Unterschiede gefunden werden. An den Tagen -4 bis -2 waren die OKT 10 Werte bei AR signifikant höher als bei VI (siehe Abb.15). Gegenüber BI war diese Differenz nur an den Tagen -3 und -2 nachweisbar, da am Tag -4 zu wenig Einzelwerte für eine statistische Auswertung vorlagen.

Ein prozentualer Anteil T 10 positiver Zellen von mehr als fünf Prozent an den Tagen -4 bis -2 sprach also für eine AR.

BI und VI waren nicht zu unterscheiden.

Ia positive Zellen

Wie die Abb.16 erkennen läßt, ermöglichten diese Zellen die Abgrenzung von AR gegenüber Infektionen (BI + VI). Bei den letzteren lagen nämlich die Prozentwerte signifikant höher.

Während die Ia positiven Zellen bei AR kaum 20 von Hundert erreichten, war ihr Prozentanteil bei BI und VI meist größer (Abb.16). Nach dem Tag 0 war eine Differentialdiagnose durch diesen Parameter nicht mehr möglich.

Zwischen BI und VI ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

T 3/Ia-Quotient

Errechnete man den Quotienten aus T 3 und Ia positiven Lymphozyten, fand man folgende Konstellation (Abb.17):

Vom Tag -4 bis zum Tag +2 lagen die Medianwerte dieses Quotienten bei AR immer über denen von BI und VI. Dieses Ergebnis konnte jedoch wegen der relativ großen Streubreite und der teilweise geringen Zahl von Einzelwerten nur für die Tage -1 und 0 statistisch gesichert werden (Abb.17).

Ein T 3/Ia-Quotient von größer als 4,0 konnte an den Tagen -1 und 0 als Hinweis für eine AR gelten.

Eine Unterscheidung von BI und VI war zu keinem Zeitpunkt möglich.

ZUSAMMENFASSUNG

Auch wenn ein einziger Parameter nur in wenigen Fällen für eine Differentialdiagnose ausreichend war, so war es doch möglich, durch Kombination der Ergebnisse der 13 untersuchten Parameter zu einer definitiven Aussage zu gelangen.

Die Abb.18, 19 und 20 fassen die Differentialdiagnosekriterien zusammen.

Zur Abgrenzung einer Abstoßungsreaktion gegen einen bakteriellen Infekt standen laut Abb. 18 folgende Parameter zur Verfügung (zutreffende Tage in Klammer) :

T 3, kleiner 60 % (+1 bis +3)

T 4 kleiner 35 % (-3 bis -1 und +2 bis +4)

T 10 größer 5 % (-3, -2)

Ia kleiner 20 % (-3 bis 0)

T 3/Ia größer 4,0 (-1, 0)

Eine Abstoßungsreaktion konnte von einem Virusinfekt durch folgende Kriterien differenziert werden (Abb.19):

LZ kleiner $1000/\text{mm}^3$ (-4 bis +4)

LGL kleiner $100/\text{mm}^3$ (-4 bis +4)

T 8 kleiner 30 % (-4 bis +4)

T 4/T 8 größer 1,2 (+1 bis +4)

T 11 kleiner 24 % (-1)

T 10 größer 5 % (-4 bis -2)

Ia kleiner 20 % (-3 bis 0)

T 3/Ia größer 4,0 (-1, 0)

Zur Differenzierung eines bakteriellen gegen einen viralen Infekt waren folgende Parameter nützlich (Abb. 20):

LZ kleiner $1000/\text{mm}^3$ (-4 bis +4)

LGL kleiner $100/\text{mm}^3$ (-4 bis +4)

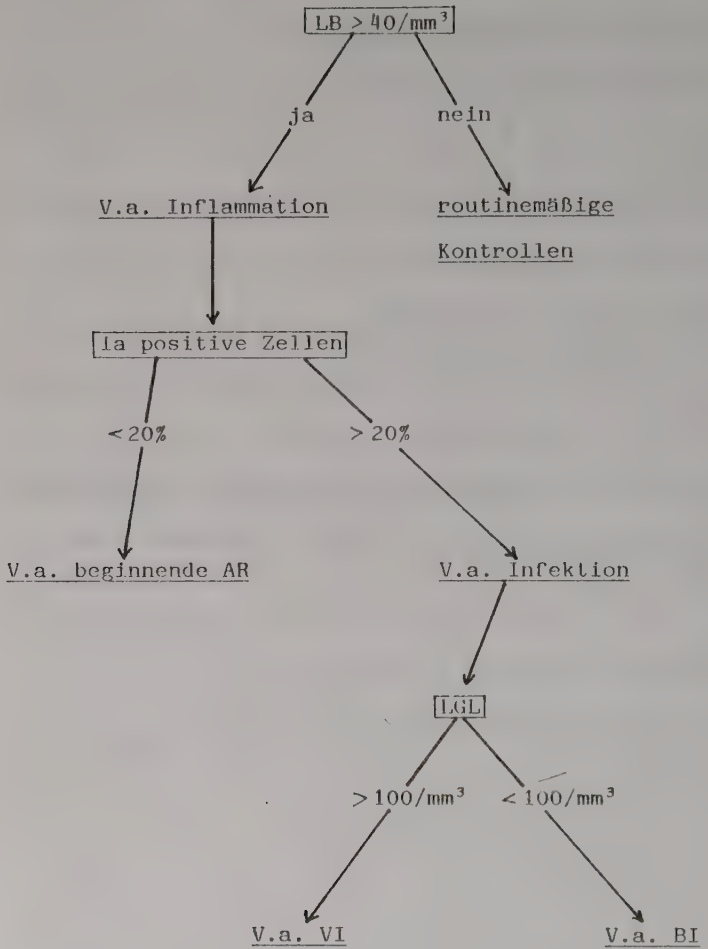
T 4 größer 35 % (+2 bis +4)

T 4/T 8 größer 1,2 (+2 bis +4)

T 11 kleiner 24 % (-1)

Um mit dieser Fülle von Daten möglichst rationell eine richtige Diagnose zu stellen, wird im folgenden ein für praktisch-klinische Belange ausgerichtetes "Entscheidungsschema" dargestellt.

Entscheidungsschema zur Differentialdiagnose



Dabei wurde versucht, mit möglichst wenigen Parametern zu einer Differentialdiagnose zu gelangen. Diese "Primärparameter" mußten folgende Kriterien erfüllen:

1. Sie mußten schon vor dem Tag 0 signifikante Unterschiede zwischen den Aktivierungsursachen aufweisen. Nur so konnte schon am ersten Tag einer Aktivierung durch Beurteilung der vorausgegangenen Tage eine Frühdiagnose getroffen werden.
2. Diese signifikante Differenz sollte für mehrere Tage gegeben sein, um die Aussagesicherheit zu erhöhen.

Erst wenn durch diese Primärparameter keine sichere Differentialdiagnose zu treffen war, wurden weitere "Sekundärparameter" benötigt (Abb.18, 19, 20).

```
*****
* Es war mit Hilfe des CIM immer möglich, *
* frühzeitig auf die Ursache von aktivierten *
* Zellbildern, seien sie durch AR, BI oder *
* VI hervorgerufen, zu schließen.          *
*****
```

3.4.1. Beispiele zur Differentialdiagnose mittels des CIM

Im folgenden werden Beispiele für typische Befunde im postoperativen Verlauf nach Herztransplantationen vorgestellt.

In der Abb.23 ist der postoperative Verlauf von einigen Parametern angegeben. Untereinander sind die Lymphoblasten, die OKT 10 positiven Zellen, die Ia positiven Zellen und die Large Granular Lymphocytes aufgezeichnet. Obwohl die OKT 10 positiven Zellen nicht zu den "Primärparametern" gehören (siehe Entscheidungsschema), wurden sie hier als zusätzliches Kriterium verwandt, da sie sehr früh (Tage -4, -3, -2) die Abgrenzung einer Abstoßungsreaktion erlaubten.

Auf der Abszisse sind die postoperativen Tage aufgetragen.

Die Lymphoblasten sind als Indikator für einen aktivierten Zustand anzusehen. Sie erreichten bzw. überschritten erstmals am Tag sechs eine Konzentration von 40 Zellen pro mm^3 . Dieser sechste postoperative Tag wurde deshalb definitionsgemäß als "Tag 0" definiert.

Laut dem Entscheidungsschema waren die Ia positiven Zellen, in der Abb.23 mit LY 2 bezeichnet, der Parameter für eine Differenzierung zwischen

Abstoßungsreaktion und Infektion. Nach den Kriterien der Abb.18 und 19 sprach ein Prozentwert von weniger als 20 von Hundert an den Tagen -3 bis 0, wie er bei diesem Patienten zu finden war, für eine Abstoßungsreaktion.

Ein weiteres Kriterium, mit dem die Zuverlässigkeit der Aussage noch vergrößert werden konnte, waren die OKT 10 positiven Zellen. Ein Anteil von mehr als 5 Prozent an den Tagen (-4), -3 und -2 war als Hinweis für eine Abstoßungsreaktion anzusehen (Abb.18, 19). Somit deutete auch dieser Wert auf eine Abstoßungskrise hin.

Die LGLs, die nur bei Virusinfektionen vermehrt zu finden waren, waren hier erwartungsgemäß sehr niedrig.

Auf die Beurteilung weiterer Parameter wurde verzichtet, da die gefundene Befundkonstellation eindeutig auf eine Abstoßungsreaktion hinwies.

Deshalb wurde der Patient mit Methylprednisolon therapiert, obwohl eine Herzmuskelbiopsie zwei Tage vorher ein negatives Ergebnis brachte. Eine Kontrollbiopsie nach Beginn der Therapie bestätigte jetzt auch histologisch die durch das CIM vermutete Abstoßungskrise.

Der Patient wurde wegen des Persistierens dieser Abstoßungsreaktion noch mehrmals mit hochdosierten Kortikosteroiden behandelt (Abb.23). Unter dieser Medikation war das CIM nicht zuverlässig und ergab

falsch negative Werte. Trotz des totalen Verschwindens von Lymphoblasten aus dem peripheren Blut konnte wiederholt eine positive Herzmuskelbiopsie gewonnen werden. Erst nach dem dritten Kortisonstoß war auch die histologische Begutachtung unauffällig.

Eine neuerliche Aktivierung mit Lymphoblastenwerten von mehr als 40 pro mm^3 zeigte sich etwa einen Monat nach der Transplantation (Abb.23).

Die Ia positiven Zellen (LY 2 in Abb.23) waren an diesem und den vorangegangenen Tagen auf Werte um . bzw. über 20 Prozent erhöht. Schon dieser Parameter sprach für eine Infektion (siehe Entscheidungsschema).

Die LGL-Konzentration lag unter dem Grenzwert von 100 Zellen pro mm^3 .

Der OKT 10 Wert war an den Tagen -3 und -2 niedrig.

Die Summe dieser Befunde wies auf einen bakteriellen Infekt hin.

Mikrobiologisch konnte der Erreger *Legionella bozemanii* nachgewiesen werden. Im weiteren Verlauf trat bei dem Patienten noch eine Aspergillensepsis hinzu, an der er verstarb. Während dieser Zeit erreichten die Lymphoblasten teilweise sehr hohe Werte, die Ia positiven Zellen blieben erhöht, die LGL niedrig (Abb.23).

Nun ein Beispiel für einen Virusinfekt (Abb.24).

Am 56. postoperativen Tag überschritten die Lymphoblasten die Konzentration von 40 pro mm^3 , der Patient war dabei klinisch völlig unauffällig.

Die Ia positiven Zellen, die wegen der Übersichtlichkeit nicht eingezeichnet sind, waren mit Werten zwischen 25 und 35 Prozent stark erhöht. Dieser Befund und die Tatsache, daß die T 10 positiven Zellen an den Tagen zuvor nicht über fünf Prozent lagen, machten eine Infektion wahrscheinlich.

Da die LGLs deutlich über $100 \text{ Zellen pro mm}^3$ angestiegen waren, wurde eine Virusinfektion vermutet, die dann auch durch Nachweis von IgM-Antikörpern gegen Cytomegalievirus bestätigt werden konnte.

Die Abb.24 zeigt auch das Auftreten einer T 4/T 8-Umkehr, d.h. einen T 4/T 8-Quotienten von kleiner 1,0. Dieser Effekt trat aber erst eine Woche später auf.

4. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

4.1. Gegenwärtiger Stand der Herztransplantation

Herztransplantationen werden als Ultima Ratio bei anderweitig nicht mehr therapierbaren Herzmuskel-schädigungen vorgenommen. Um die wenigen zur Verfügung stehenden Organe auf die Patienten zu verteilen, die gute Chancen zur Wiedererlangung eines weitgehend normalen Lebens haben, werden strenge Auswahlkriterien für die Indikation zur Herztransplantation gestellt. Nach den Richtlinien von Shumway und vielen anderen Autoren (7, 39, 63, 120, 150) darf der Patient nicht älter als 50 Jahre sein und es muß eine Herzinsuffizienz vom Grad IV nach der NYHA Nomenklatur vorliegen. Weiterhin ist das Fehlen von irreversiblen Leber- und Nierenschädigungen, sowie von neurologischen und Stoffwechselerkrankungen (wie Diabetes mellitus) Voraussetzung. Der Patient muß frei von System-erkrankungen sein und darf keinen Anhalt für eine Infektion bieten.

Wird das Patientengut nach solchen Auswahlkriterien selektioniert, dann werden gegenwärtig Ein-Jahres-Überlebenszeiten von 70 bis 80 Prozent erreicht und nach fünf Jahren Überleben nach Voraus-schätzungen mehr als 60 Prozent der Patienten die Operation (63, 104, 150, 152, 156, 189, 193).

Immunsuppression durch Cyclosporin A (CY-A)

Diese guten Ergebnisse werden nicht zuletzt durch den Einsatz eines neuen immunsuppressiven Medikaments, CY-A, erreicht.

Dieses CY-A wurde 1970 aus dem Mycel eines Bodenzapilzes isoliert und bewirkt im Gegensatz zu den vorher verwandten Immunsuppressiva (Azathioprin, Antithymozytenglobulin), deren Wirkungsmechanismus eine Reduktion der absoluten Zellzahlen immunkompetenter Lymphozyten zugrunde liegt, eine Immunmodulation (21).

Es hemmt nämlich selektiv solche Schritte der Immunantwort, die für die Aktivierung von T-Lymphozyten wichtig sind. Ein solcher Angriffspunkt ist die Inhibition der Transskription der für den Wachstumsfaktor Interleukin 2 kodierenden m-RNA (113). Dieser Mechanismus beeinflußt selektiv und reversibel vor allem die (durch Interleukin 2 induzierte) Differenzierung und Reifung der zytotoxischen T-Lymphozyten, so daß deren organzerstörende Wirkung verhindert werden kann (97, 114, 230).

Außerdem hemmt CY-A die Freisetzung und/oder Produktion von Mediatoren wie Gamma-Interferon, Interleukin 1 und weiteren chemotaktischen Faktoren (23, 92, 165).

Wesentlich für den Fortschritt der Immunsuppression durch CY-A scheint die Tatsache zu sein, daß CY-A

selektiv nur auf definierte T-Lymphozyten-Subpopulationen wirkt. Durch diese sehr spezifische Aktivität wird weder die medulläre Blutbildung noch die körpereigene Infektabwehr durch die Antikörper bildenden B-Lymphozyten beeinträchtigt (21), während bei konventioneller Immunsuppression diese unerwünschten Wirkungen immer vorhanden waren.

Veränderungen des peripheren Blutes durch CY-A

Der spezifische Angriffspunkt von CY-A, die Hemmung der zytotoxischen T-Lymphozyten, verursacht eine Veränderung der Zusammensetzung des weißen Blutbildes. Mehrere Autoren (29, 108, 131, 132) berichten über eine Abnahme des T 4/T 8-Quotienten nach CY-A Gabe. Dieser Effekt tritt jedoch nicht sofort nach Applikation des Medikaments ein, sondern kann erst nach ungefähr acht Wochen nachgewiesen werden (29, 131, 132).

Für diese T 4/T 8-Erniedrigung ist sowohl ein Anstieg der T 8 als auch eine Abnahme der T 4 positiven Zellen verantwortlich. Die gesamten T-Lymphozyten, markiert durch OKT 3, und auch die absoluten Lymphozytenzahlen bleiben unverändert.

Diese Ergebnisse legen nahe, daß CY-A einerseits Suppressorzellen induziert, die dem T 8 Anstieg zugrunde liegen, und andererseits Helfer- und zytotoxische T-Zellen hemmt (131, 132).

4.2. Abstoßungsreaktionen

4.2.1. Abstoßungsmechanismus

Im folgenden wird ein Modell für die Vorgänge bei Abstoßungsreaktionen vorgestellt (33, 95, 128, 201, 206):

Seit langem ist die Bedeutung von sensibilisierten T-Zellen für die Abstoßungsreaktion bekannt (32). Experimente zeigten, daß Tiere, deren T-Lymphozyten durch Thymektomie oder Bestrahlung ausgeschaltet worden waren, ein fremdes Organ nicht abstießen (109, 203). Jedoch besteht bei immunkompetenten Tieren die Transplantatabstoßung aus einer Interaktion von zellulären Mechanismen und Antikörpern (33).

Alle reifen T-Lymphozyten tragen das T 3-Antigen als Oberflächenmarker. Die Unterscheidung in zwei funktionelle Untergruppen mittels monoklonaler Antikörper ist durch die Ausbildung von T 4 und T 8 Oberflächenproteinen möglich (171).

T 4 positive Helfer-Lymphozyten erkennen hauptsächlich HLA-Antigene der Klasse II, während zytotoxische Lymphozyten, die mit dem OKT 8 Antikörper markiert werden können, HLA-Antigen der Klasse I erkennen (10, 53).

Die Helferzellen werden durch Klasse II HLA-Antigene, die vom Major Histocompatibility Complex (MHC) des Chromosoms 6 kodiert werden, aktiviert. Dies führt zur Abgabe eines makrophagenstimulierenden Lymphokins. Dagegen entwickeln die zytotoxischen Lymphozyten, die mit Klasse I HLA-Antigenen eine Verbindung eingehen, Interleukin 2 Rezeptoren. Nicht durch Antigen aktivierte Zellen bilden keine Rezeptoren aus (95).

Die durch das makrophagenstimulierende Lymphokin, das von den Helferzellen abgegeben wird, aktivierten Makrophagen produzieren Interleukin 1 (137). Dieses Interleukin 1 seinerseits veranlaßt die damit stimulierten T-Helferzellen zur Abgabe von Interleukin 2 (198, 201). Interleukin 1 führt somit in Verbindung mit Antigen zur Ausschüttung von Interleukin 2 (95).

Dieses Interleukin 2 widerum zeigt mehrere Wirkungen:

Es bindet sich an die zytotoxischen T-Zellen und veranlaßt diese zur Proliferation (65, 144). Weiterhin bewirkt es eine Aktivierung von natürlichen Killerzellen (66, 93, 180). Laut Solbach (201) hat Interleukin 2 keine mitogene Aktivität auf T 4 Zellen, die es produzieren. Dagegen veranlaßt Interleukin 2 die Helferzellen zur Abgabe von Gamma-Interferon, das seinerseits Makrophagen aktivieren kann (56). Zusätzlich führt Interleukin 2

zur Abgabe von T-Zell Wachstums- und Differenzierungsfaktoren (206).

Auf diese Weise führt Interleukin 2 sowohl zur Aktivierung von B-Zellen, als auch von Makrophagen und zytotoxischen Zellen (206). Somit beinhaltet die Reaktion auf ein fremdes Organ die Antwort von allen wichtigen Elementen des Immunsystems. Die besondere Wichtigkeit von T-Helferzellen rührt von ihrer Fähigkeit her, Faktoren zu produzieren, die sowohl zytotoxische T-Zellen als auch Makrophagen und B-Zellen zu aktivieren vermögen (siehe dazu Abb.21).

4.2.2. Diagnostik von Abstoßungsreaktionen

1973 wurde von Caves und Billingham (30) die regelmäßige Endomyokardbiopsie zur frühzeitigen histologischen Erkennung von Abstoßungsreaktionen eingeführt. Bei dieser Methode, die sich als sehr zuverlässig erwiesen hat, werden in Lokalanästhesie und unter Röntgenkontrolle mit einer feinen Biopsiezange nach Caves (31) über die V. jugularis interna winzige Proben aus dem rechtsventrikulären Septum entnommen.

Bei der lichtmikroskopischen Auswertung werden das Endokard, das interstitielle Gewebe, die Herzmuskelzellen und die Gefäße mit dem perivaskulären Gewebe nach den Kriterien von Billingham beurteilt (12).

Im Bestreben, diese invasive Technik zur Früherkennung von Abstoßungsreaktionen durch andere Maßnahmen ganz oder teilweise zu ersetzen, wurden verschiedene weitere Methoden angewandt.

Warnecke (231) berichtete über die Verwendung eines Telemetrieschrittmachersystems, dessen Schraubelektrode in der Wand des rechten Ventrikels erlaubt, die Voltage des lokalen EKG's zu registrieren. Ein Voltageverlust von mehr als 15 Prozent gegenüber dem Vortag korrelierte mit hoher Sensitivität (96%) und Spezifität (87%) mit einer nachgewiesenen Abstoßungskrise.

Durch Isotopenventrikulographie (187) und implantierte Metallmarker (192) konnten nur fortgeschrittene Abstoßungsreaktionen, die bereits zu deutlichen Funktionsverlusten des Herzmuskels geführt hatten, erkannt werden. Diese Methoden sind somit zur Frühdiagnose unbrauchbar.

Am besten und praktikabelsten wäre die routinemäßige Diagnostik von Abstoßungskrisen durch deren Erkennung im peripheren Blut zu erreichen.

Margreiter (126) versuchte, Abstoßungsreaktionen durch Bestimmung von Neopterin zu erkennen. Diese Technik fand wegen der zu geringen Sensitivität und Spezifität keine breite Anwendung.

Eine zuverlässige Diagnostik ist die zytologische Beurteilung von Lymphozyten im peripheren Blut. Hammer fand im mononukleären Konzentrat des peripheren Bluts morphologische Zeichen für eine Aktivierung des Immunsystems (78, 79). Aktivierete Zellen der lymphatischen Reihe, die Prä-Lymphoblasten und die Lymphoblasten, traten bei 93,5 Prozent aller histologisch gesicherten Abstoßungsreaktionen auf. Dabei gingen diese Zellen dem bioptischen Nachweis einer Abstoßungskrise in den meisten Fällen (94%) um mindestens einen Tag voraus.

Der Schwachpunkt dieser Erkennungsmöglichkeit von Abstoßungsreaktionen durch das Auftreten von Lymphoblasten im peripheren Blut war die relativ geringe Spezifität von 70 Prozent (78, 79). Es hatte sich gezeigt, daß die Lymphoblasten bei vielen Affektionen des Immunsystems, wie bakteriellen oder viralen Infektionen, auftreten und nicht nur bei Abstoßungsreaktionen.

4.2.3. Veränderungen im peripheren Blut bei Abstoßungsreaktionen

Lymphoblasten

Wir fanden bei den von uns untersuchten Patienten, die mit Cyclosporin A immunsupprimiert wurden, in 87,5 Prozent aller Abstoßungsreaktionen eine hochsignifikante Zunahme von Lymphoblasten im peripheren Blut.

Abstoßungskrisen ohne deutliche Lymphoblasten-Erhöhung traten nur dann auf, wenn die Patienten kurz zuvor mit hohen Dosen von Korticosteroiden behandelt worden waren. Durch diese immunsuppressive Therapie wurden die LB im peripheren Blut eliminiert, während sie im Herzmuskelgewebe persistierten (41, 76).

Diese Ergebnisse stehen in guter Übereinstimmung mit den Resultaten von Hammer (78, 79), Reichen-spurner (167) und Ertel (54), die über eine Lymphoblastogenese in 94,8 bzw. 95,3 Prozent berichteten.

Oka (149) zeigte, daß die bei Nierentransplantationen unter CY-A in 86 Prozent der AR spontan entstandenen LB dem Killer- bzw. Suppressorzelltyp zuzurechnen waren. Kerman (107, 108) fand ebenfalls einen Zusammenhang zwischen dem Auftreten von LB und Abstoßungskrisen. Auch Weber (232) entdeckte LB im peripheren Blut bei AR von transplantierten

Nieren. Gleichfalls bei nierentransplantierten Patienten, die mit konventioneller Therapie immunsupprimiert wurden, beschrieb schon 1968 Tennenbaum eine Korrelation zwischen AR und spontaner Leukozytentransformation (209). Hersh (96) bestätigte 1971 diese Beobachtung bei 24 Nierentransplantationen. Auch Thomas (210, 211) fand unter konventioneller Immunsuppression einen signifikanten Anstieg der Blastenaktivität während Abstoßungskrisen.

Zusammenfassend ist festzuhalten:

Die spontane Blastogenese bei Abstoßungsreaktionen wurde von vielen Autoren beschrieben. Sowohl bei konventioneller als auch bei Cyclosporin A Immunsuppression konnte bei der größten Zahl von Abstoßungskrisen eine Zunahme der Lymphoblastenaktivität im peripheren Blut beobachtet werden.

T 3 positive Zellen

Bei den durch OKT 3 markierten T-Zellen war während Abstoßungsreaktionen im peripheren Blut keine Zu- bzw. Abnahme festzustellen.

Dies steht in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Carter (29) und Citterio (38) bei Nierentransplantationen unter CY-A.

Dagegen fand Kerman (107, 108) bei CY-A immunsupprimierten Nierenempfängern eine Reduktion der rosettenbildenden Zellen.

Auch bei Patienten mit konventioneller Immunsuppression zeigten sich widersprüchliche Ergebnisse. Während van Es (219) keine Veränderung der T 3 Lymphozyten beobachtete, wies Daniel (45) einen Anstieg dieser Subpopulation von 38 auf 55 Prozent nach. Bieber (11) konnte durch Bestimmung der T-Lymphozyten mit Hilfe der Rosettentechnik eine Frühdiagnose von AR nach Herztransplantationen erreichen.

Mehrere Autoren (59, 83, 172) betonen bei konventioneller Immunsuppression die Rolle von T-Lymphozyten im Organ selbst. Hammer (77) fand bei nicht abgestoßenen Nieren viele T-Lymphozyten. Diese Aussage wird von Claesson (40) unterstützt, der bei experimentellen Nierentransplantationen ohne Immunsuppression die meisten infiltrierenden Zellen als T 3 positiv identifizieren konnte.

Bei Herzmuskelbiopsien konnte Rose (179) unter konventioneller Immunsuppression eine starke Zunahme von T-Lymphozyten während Abstoßungskrisen erkennen. Dagegen waren bei Immunsuppression durch CY-A immer viele T-Lymphozyten im Herzmuskel vorhanden, ohne daß sich ihre Zahl während AR verändert hätte.

Es läßt sich zusammenfassend feststellen, daß bei CY-A behandelten Patienten weder die Anzahl der im peripheren Blut zirkulierenden, noch die Menge der im Organ vorhandenen T-Lymphozyten eine Aussage über eine im Gang befindliche Abstoßungsreaktion zuläßt.

T 4 und T 8 positive Zellen

Wir konnten bei unseren Untersuchungen weder Veränderungen der T 4 und T 8 Lymphozytensubpopulationen noch des T 4/T 8-Quotienten bei AR beobachten.

Eine Reihe von Autoren, die bei herztransplantierten Patienten diese Subpopulationen während Abstoßungskrisen genau verfolgten, konnten ebenfalls keine sicheren T 4/T 8 Fluktuationen beschreiben (54, 79, 106, 167).

Diese Ergebnisse wurden von mehreren Autoren, die das periphere Blut nierentransplantierte Patienten, die mit CY-A behandelt wurden, während AR untersuchten, bestätigt:

Guttmann (73, 74), Carter (29) und Hammer (77) sowie v. Willebrand (233), Morris (139) und Vereerstraeten (222) fanden keine Verschiebungen zwischen den T 4 und T 8 Subpopulationen. Kerman beschrieb eine unsichere T 4/T 8-Erhöhung, die höchstens als Bestätigung für eine AR dienen konnte (107, 108).

Dagegen entdeckte Mazaheri (130) bei Patienten mit über acht Wochen dauernder CY-A Immunsuppression einen T 4/T 8-Anstieg von 1,05 auf 2,7. Dies wurde auch durch die Ergebnisse von Cosimi (41) und Guttmann (72) unterstützt. Citterio (38) bemerkte eine Abnahme von T 8, jedoch ohne sicheren Anstieg des T 4/T 8-Quotienten. Burton (24) konnte bei

Nierenversagen mit einem T 4/T 8 Verhältnis von größer als 1,0 durch Abstoßungstherapie eine Reversibilität erreichen. War das Organversagen mit einem T 4/T 8-Quotienten von kleiner als 1,0 verbunden, so waren nur 22 Prozent der Nieren-dysfunktionen rückbildungsfähig.

Diese Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß zumindest in der akuten postoperativen Phase im peripheren Blut von CY-A immunsupprimierten Patienten keine eindeutigen Veränderungen der T 4 und T 8 Lymphozytensubpopulationen gefunden werden können.

Dagegen wurden bei zahlreichen Untersuchungen nach Nierentransplantationen unter konventioneller Immunsuppression T 4/T 8-Erhöhungen im peripheren Blut während AR beobachtet:

Cosimi (41), Nanni-Costa (149), Binkley (13), Pennline (155) sowie Mohanakumar (138) und viele weitere Autoren (35, 41, 51) fanden einen gegenüber Ruheperioden erhöhten T 4/T 8-Quotienten. Smith (199, 200) und Shield (194) konnten vor allem eine T 8 Zunahme nachweisen. Daniel (45) zeigte einen konstanten T 8 Wert bei ansteigendem T 4 und konsekutiv erhöhtem T 4/T 8-Quotienten auf. Freed (61) berichtete von einer T 4/T 8 Erhöhung, die dem Kreatininanstieg um vier bis 16 Tage vorausging.

Kovithavongs (112) versuchte diese Ergebnisse in einer gemeinsamen Theorie unterzubringen:

In einer frühen Phase der Abstoßungsreaktion wandern zytotoxische Lymphozyten aus dem Blut in das Organ ein. Dies bedingt einerseits eine Zunahme des T 4/T 8-Quotienten im peripheren Blut (siehe auch 36, 42, 52, 72) und andererseits eine Abnahme des T 4/T 8-Quotienten im Organ. Ist das Zielorgan mit zytotoxischen Zellen angereichert, erscheinen dann in einer späten Phase der Abstoßungsreaktion diese Zellen im peripheren Blut, was in einer T 4/T 8 Abnahme seinen Ausdruck findet (139, 215).

Diese Theorie von Kovithavongs wird von einer Reihe von Untersuchungen über Veränderungen von Lymphozyten-Subpopulationen im abgestoßenen Organ unterstützt (bei konventioneller Immunsuppression):

Rose (179) und Hoshimaga (101) fanden bei Herzmuskelbiopsien ein Überwiegen der Suppressor- und Zytotoxischen Zellen, markiert durch OKT 8, über die Helferzellen, durch OKT 4 gekennzeichnet. Zu gleichen Ergebnissen gelangten Hancock (82), Platt (157) und Hammer (77) bei Untersuchungen von transplantierten Nieren mittels Feinnadelbiopsie.

Demgegenüber sind die Erkenntnisse über die Lymphozyten-Subpopulationen bei Patienten unter CY-A Immunsuppression nicht so einheitlich:

Singh (197) entdeckte in Herzmuskelbiopsien einen Anstieg von T 4, gefolgt von T 8 positiven Zellen, die im weiteren Verlauf zum vorherrschenden Zelltyp wurden. Marboe (125) konnte in Herzmuskelbiopsien überwiegend aktivierte T 8 Zellen nachweisen. Auch Devineni (46) erkannte in Biopsien ein Vorherrschen der Suppressorzellen. Dagegen konnte Rose (179) keinen verkleinerten T 4/T 8-Quotienten nachweisen. Ebenso wurden bei Nierenbiopsien unter CY-A divergierende Ergebnisse erhalten:

Während Hammer (77) keine T-Lymphozytenverschiebungen bei Abstoßungskrisen erkennen konnte, berichteten Vereerstraeten (222), v. Willebrand (172, 233) sowie Hancock (83), Platt (158) und van Es (220) über ein Absinken von T 4 bei gleichzeitigem Anstieg von T 8 positiven Zellen im Nierenpunktat. Morris (140) und Hall (75) fanden demgegenüber ein Vorherrschen T 4 positiver Zellen.

Zusammenfassend ist festzuhalten:

Während bei konventioneller Immunsuppression ein T 4/T 8 Anstieg im peripheren Blut und eine Zunahme von T 8 positiven Zellen im Organ selbst als Hinweis für eine Abstoßungsreaktion zu werten sind, kann bei Patienten unter CY-A Medikation weder im peripheren Blut noch im transplantierten Organ ein eindeutiges Muster von T 4 und T 8 positiven Lymphozyten bei Abstoßungskrisen gefunden werden.

Large Granular Lymphocytes

Bei Abstoßungsreaktionen konnten wir keine Vermehrung der LGLs, die nach Timonen (214) den natürlichen Killerzellen (NK) entsprechen, im peripheren Blut beobachten.

Weber (232) fand bei CY-A behandelten Nierenempfängern ebenso keine Erhöhung der LGL-Werte im Blut. Auch Waltzer (227) konnte keine angestiegene NK-Aktivität unter konventioneller Immunsuppression entdecken.

Demgegenüber stehen Berichte von Helling (94) und Shield (194), die einen Anstieg Leu 7-positiver Zellen, die mit NK-Zellen identisch sind, im peripheren Blut von konventionell immunsupprimierten Nierenempfängern fanden. Auch Heberman (91), Guillaou (71), Cudkowicz (44) und Lipinski (117) berichteten über eine Zunahme der NK-Aktivität während Abstoßungskrisen.

Im Herzmuskel selbst fand Marboe (125) unter CY-A Medikation eine geringe Anzahl von NK-Zellen, ebenso wie Weber (232) über vermehrte LGLs in Nierenbiopsien berichtete. Hammer (77) entdeckte bei konventioneller Immunsuppression in die Niere infiltrierte Lymphozyten, die keine T-Zell-Antigene an ihrer Oberfläche trugen. Auch Häyry (86) konnte in einem experimentellen Modell LGLs als erste Zellen im abgestoßenem Organ identifizieren.

Faßt man diese Befunde zusammen, so ergibt sich folgendes Bild:

Large Granular Lymphocytes (NK-Zellen, Leu 7-positive Zellen) sind an vorderster Front bei der Infiltration eines fremden Organs beteiligt. Im peripheren Blut sind sie jedoch bei CY-A Immunsuppression nicht vermehrt nachweisbar.

T 11 positive Zellen

Die Zellen mit E-Rosetten-Rezeptoren, die mit Hilfe des OKT 11 Antikörpers markiert werden konnten, zeigten bei unseren Untersuchungen einen Gipfel zu Beginn der Abstoßungsreaktionen.

Bei sieben Abstoßungskrisen, bei denen die Patienten ihr transplantiertes Organ verloren, konnte Shield (194) eine erhöhte Zahl OKT 11 positiver Lymphozyten nachweisen. Dabei trat der höchste Stand dieser T 11 tragenden Zellen bereits einige Tage vor der histologischen Diagnose einer Abstoßungsreaktion auf.

Die übereinstimmenden Ergebnisse dieser Untersuchungen über das T 11 Antigen auf Lymphozytenmembranen legen nahe, daß eine Zunahme dieser Zellen als Hinweis für eine beginnende Abstoßungskrise anzusehen ist.

T 10 positive Zellen

Laut Bodger (18) reagiert der OKT 10 Marker mit unreifen und aktivierten Lymphozyten.

Wir fanden bei Abstoßungsreaktionen eine signifikante Erhöhung dieser Zellen auf etwa das dreibis vierfache gegenüber dem Ausgangswert.

Cosimi (41) berichtete nach Nierentransplantationen unter konventioneller Immunsuppression über eine Zunahme des T 10-positiven Anteils der Lymphozyten auf etwa 60 Prozent gegenüber 17 Prozent bei Ruheperioden. Auch Helling (94) zeigte bei Abstoßungskrisen einen OKT 10-peak im peripheren Blut, der gegenüber den Ruhewerten verdoppelt war.

Zusammenfassend kann man davon ausgehen, daß eine Abstoßungsreaktion mit einer deutlichen Zunahme OKT 10-positiver Zellen einhergeht.

Ia-Antigen positive Zellen

Wir konnten bei Abstoßungsreaktionen eine hochsignifikante Zunahme Clone 5202-positiver, d.h. Ia-Antigen tragender Zellen nachweisen.

Dieses Ergebnis steht im Widerspruch zu den Resultaten mehrerer Autoren, die keine Veränderungen Ia-positiver Zellen während Abstoßungskrisen fanden (29, 45, 130).

Dagegen beschrieb Green (69) bei Nierentransplantationen unter konventioneller Immunsuppression eine Vermehrung Ia-positiver B-Zellen von normal etwa 10 Prozent bis auf maximal 53 Prozent. Bei experimentellen Nierentransplantationen fand Claesson (40), daß die meisten infiltrierten Zellen an ihrer Oberfläche das Ia-Antigen trugen.

Insgesamt kann man feststellen:

Während einige Autoren keine Veränderung der Ia-positiven Zellen bei Abstoßungsreaktionen beobachteten, fanden wir in Übereinstimmung mit anderen Untersuchern, einen hochsignifikanten Anstieg Ia-tragender Zellen im peripheren Blut.

Zusammenfassung:

Eine Abstoßungsreaktion ist durch folgende Veränderungen der Lymphozytensubpopulationen im peripheren Blut gekennzeichnet:

Einer Zunahme von T 10-positiven Zellen folgt ein Anstieg von Lymphoblasten. Die zusätzliche prozentuale Vermehrung von OKT 11-positiven Lymphozyten ist, nach Ausführungen der Mehrzahl der Autoren, von einer Proliferation Ia-Antigen tragender Zellen begleitet.

4.3. Bakterielle Infektionen

Bei 28 Prozent unserer 14 Patienten traten bakterielle und mykotische Infektionen (BI) auf.

Ho (100) fand bei Herztransplantationen sogar bei 44 Prozent aller Patienten einen bakteriellen Infekt. Auch Dummer (48) berichtete über schwere Thorax- und Abdominalinfektionen nach Herztransplantationen, dabei überwogen gramnegative Erreger (70 %) die grampositiven (30 %). Häufige Keime waren Actinobacter, Escherichia coli, Listerien, Salmonellen und Toxoplasmen.

Während von unseren Patienten mit schweren bakteriell-mykotischen Infektionen 60 Prozent verstarben, betrug die Letalität bei Dummer (48) 75 Prozent. Der gleiche Autor gibt eine Häufigkeit von Pilzinfektionen von nur zwei Prozent an, während in unserem Krankengut 40 Prozent aller bakteriellen Infekte durch eine Pilzsepsis kompliziert wurden. Zu einem ähnlichen Ergebnis gelangte Baumgartner (7), der über eine hohe Rate von Pilzinfektionen berichtete.

Nach Ho (100) bewirkt die Immunsuppression durch CY-A eine Reduzierung von Bakteriämien, Pneumonien und grampositiven Staphylococcus-Infektionen gegenüber konventionellen Immunsuppressiva. Dagegen soll das Risiko einer Pneumocystis carinii Infektion

unter CY-A im Vergleich mit konventioneller Immunsuppression ansteigen (85, 99, 102, 142, 174, 229). Alle diese Ergebnisse zeigen, daß bakterielle und mykotische Infekte bei immunsupprimierten Patienten zu den häufigen und vital bedrohlichen Komplikationen nach Organtransplantationen gehören. Um die hohe Letalität zu senken, ist, neben der Prävention von BI durch Aspsis und Antisepsis, eine möglichst frühe Diagnose und wirksame Therapie Voraussetzung.

4.3.1. Veränderungen im peripheren Blut bei bakteriellen/mykotischen Infekten

Lymphoblasten

Wir konnten bei allen klinisch relevanten bakteriell-mykotischen Infektionen das Auftreten von Lymphoblasten im mononukleären Konzentrat des peripheren Blutes beobachten.

Gleiche Ergebnisse wurden auch von Hammer (79), Reichenspurner (167) und Ertel (54) beschrieben. Sie fanden eine gesteigerte Blastogenese bei reaktivierter pulmonaler Tuberkulose und verschiedenen kleineren Infekten.

Lymphozyten

Eine geringgradige Zunahme der absoluten Lymphozytenzahlen, wie wir sie bei unseren Patienten während BI gefunden haben, wird auch von De Waele (225) bei Infektionen mit *Toxoplasma gondii* bestätigt.

T 3 positive Zellen

Dagegen steht eine vom gleichen Autor und von Shirutsuchi (195) nachgewiesene leichte Zunahme von T 3-positiven Zellen bei Tuberkulose mit unseren Ergebnissen nicht in Einklang.

Auch Mshaha (141) konnte keine T 3-Veränderungen bei schweren Infekten feststellen.

Troye-Blomberg (217) fand sowohl beim Rosettentest mit Schafserythrozyten als auch mit Hilfe von OKT 3 Antikörpern eine reduzierte Anzahl von T-Lymphozyten (125).

T 4 und T 8 positive Zellen

Über die T-Lymphozyten Subpopulationen T 4 und T 8 bzw. deren Verhältnis zueinander, wurden bei verschiedenen Infektionen und verschiedenen Autoren differente Ergebnisse erhalten.

In unseren Untersuchungen über BI bei herztransplantierten Patienten konnte keine signifikante Veränderung weder der T 4- und T 8-Subpopulationen noch von deren Quotienten nachgewiesen werden,

Dagegen beschrieb De Waele (225) bei Toxoplasma gondii Infektionen eine Abnahme von T 4 bei gleichzeitigem Anstieg von T 8, was in einem signifikanten T 4/T 8-Abfall zum Ausdruck kam. Mustafa (143), Mehra (133, 134) und Bloom (16) berichteten über die Induktion von Suppressor- und Zytotoxischen Lymphozyten durch mykobakterielle Antigene. Ähnliche Ergebnisse wurden von Rea (164) veröffentlicht. Troye-Blomberg zeigte eine reduzierte T 4/T 8-Ratio bei Infektionen mit dem Malariaerreger Plasmodium falciparum. Sie führte diese Veränderung zuerst auf eine T 4-Abnahme und im weiteren Verlauf des Infektes auf einen T 8-Anstieg zurück. Ein anderer Malariaerreger, Plasmodium vivax, bewirkte keine solchen Zellverschiebungen.

Shirutsuchi (195) fand wechselnde Ergebnisse bei Tuberkulose-Infektionen. Während akute Infekte eine T 4-Zunahme mit einem erhöhten T 4/T 8-Quotienten erkennen ließen, wiesen chronische Infekte eine Reduktion dieses Quotienten auf.

T 11 positive Zellen

Einheitlich dagegen waren Untersuchungen über E-Rezeptoren tragende, d.h. OKT 11-positive Lymphozyten.

Wir beobachteten zu Beginn der Infektion relativ hohe Werte, die dann jedoch bald wieder abnahmen.

Shirutsuchi (195) beschrieb ebenfalls eine Erhöhung der E-Rosetten bildenden Zellen. Damit übereinstimmend fand Narayanan (147) bei mykobakteriellen Infektionen einen erhöhten OKT 11-Anteil der Lymphozyten.

T 10 positive Zellen

Auch die von uns nachgewiesenen kurzzeitigen OKT 10-Anstiege erhielten bei De Waele (225) eine Bestätigung. Er berichtete über eine bis zu dreifache Anzahl T 10-positiver Zellen bei Toxoplasmosen. Dabei verschwanden diese Aktivierungsantigene der Lymphozyten wieder sehr rasch aus dem peripheren Blut, wie auch De Waele (223) und Luft (122) zeigen konnten.

Ia positive Zellen

Eine wesentliche Hilfe für die Diagnose einer bakteriellen Infektion war bei unseren Untersuchungen die erhöhte Anzahl Ia-positiver Zellen im peripheren Blut.

Auch De Waele (225) fand besonders zu Beginn einer Infektion stark zunehmende Ia-Antigen tragende Zellen. Dieses Phänomen konnte gleichfalls von Shirutsuchi (195) nachgewiesen werden.

Das Ia-Antigen findet sich auf aktivierten Lymphozyten, Monozyten und B-Zellen (111). So können B-Zell-Aktivatoren, wie die *Staphylococcus aureus* Antigene, eine Proliferation Ia-positiver Lymphozyten bewirken (2, 3, 87, 123, 129, 136, 145, 185, 216).

Zusammenfassung

Bei bakteriell-mykotischen Infektionen fand sich somit folgendes Bild der Lymphozyten-Subpopulationen im peripheren Blut:

Neben dem Auftreten von Lymphoblasten und einer geringen Zunahme der absoluten Lymphozytenzahlen, wurde von mehreren Autoren eine Vermehrung der T 10- und T 11-positiven Zellen beschrieben. Während über die gesamten T-Zellen und die T-Zell-Subpopulationen T 4 und T 8 widersprüchliche Erkenntnisse vorliegen, sind die Berichte über einen Anstieg Ia-positiver Zellen einheitlich.

4.4. Virale Infektionen

Im Laufe ihres stationären Aufenthaltes bekamen 36 Prozent unserer Herzempfänger eine Virusinfektion (VI). Die meisten davon (86%) wurden durch Viren der Herpesgruppe, Cytomegalieviren, Epstein-Barr Viren und Herpes simplex Viren hervorgerufen.

Über die Häufigkeit von Virusinfektionen bei immunsupprimierten Patienten liegen viele Untersuchungen vor. Würsch (235) fand bei 88 Prozent seiner Patienten eine Cytomegalie-Infektion. Dummer (48) konnte bei 55 Prozent der Patienten Herpes simplex-, bei 62 Prozent Cytomegalie- und bei 83 Prozent Epstein-Barr Viren nachweisen. Hardy (85) berichtete von einer 100prozentigen Infektionsrate. Diese Aussagen bestätigen die Ergebnisse von Ho (100), der nach Herztransplantationen in 96 Prozent eine Cytomegalie- und in 46 Prozent eine Epstein-Barr-Infektion eruieren konnte. Deutlich weniger Cytomegalievirus-Infekte wurden von Smith (200) festgestellt.

Von vielen Autoren wurde das Spektrum (60, 98, 182) und die Problematik (9, 58, 67, 179, 183) von viralen Infekten nach Transplantationen beschrieben. Auf der einen Seite führen diese Virusinfektionen zu direkten Schäden. Herpes simplex Erreger verursachen schwere orale und genitale

Läsionen (37, 153, 163) oder Varicella-Zoster Viren führen zu ausgeprägten Neuralgien (121, 163). Besonders Cytomegalieviren gefährden Herz- und Nierentransplantierte durch hohe Morbidität, bei Knochenmarkstransplantationen sogar durch relativ große Letalität.

Andererseits begünstigen Viren, insbesondere Cytomegalieviren, bakterielle Sekundär- und Superinfektionen. Rubin (182) und Ho (99) betonen die erhöhte Anfälligkeit für Bakterien-, Pilz- und Parasitenbefall (besonders *Pneumocystis carinii*) nach vorausgegangener Virusinfektion.

Die Abb.22 gibt eine Übersicht über die bei Virusbefall ablaufenden körpereigenen Abwehrmechanismen:

Nach Quinnan (160) beginnt nach einer Virusinfektion sehr rasch die Aktivität der natürlichen Killerzellen anzusteigen (88, 161, 162, 186), was im peripheren Blut durch die Zunahme von LGLs erkennbar ist. In einem zweiten Schritt folgt noch in der ersten Infektionswoche die zytotoxische T-Zell Antwort, repräsentiert durch T 8-positive Zellen (160, 237). Schließlich erscheint in der Virusabwehr die Antikörper-abhängige Komplement-Zytotoxizität (ADCC), welche für lange Zeit erhalten bleibt (154, 160).

4.4.1. Veränderungen im peripheren Blut bei Virusinfektionen

Lymphoblasten

Hammer (79), Reichenspurner (167) und Ertel (54) berichteten über eine deutliche Blastogenese im peripheren Blut bei Virämie.

Diese Feststellungen stimmen gut mit unseren Ergebnissen überein, wo bei allen serologisch gesicherten Virusinfekten ein deutlicher Lymphoblastenanstieg zu beobachten war.

Auch Rossiter (181) fand eine Zunahme von Lymphoblasten der T-Reihe bei Infektionen mit Herpesviren. Gleichfalls wird von Weber (232) über das Auftreten von Lymphoblasten im peripheren Blut berichtet. Während bei unauffälligen Nierentransplantierten keine solchen aktivierten Lymphozyten nachweisbar waren, machten sie bei Virämie $6,0 \pm 4,4$ Prozent der peripheren Lymphozyten aus. Budillon (22) wies eine B-Lymphozyten-Blastogenese bei chronisch aktiver Hepatitis B nach. Ebenso fand Miller (135), daß lebender Epstein-Barr Virus selektiv B-Zellen befällt und diese in IgG sezernierende lymphoblastoide Zellen transformiert (14, 105).

Alle diese Ergebnisse machen deutlich, daß eine generalisierte virale Infektion zu einer Lymphoblastenausschwemmung ins periphere Blut führt.

Lymphozyten

Ein weiterer wichtiger Punkt für die Diagnose einer Virusinfektion bei unseren Patienten war die erhöhte absolute Zahl von Lymphozyten pro mm^3 Blut.

Weber (232) kam zu der gleichen Feststellung: die absoluten Lymphozytenwerte steigen von 42 ± 13 Prozent auf 55 ± 16 Prozent signifikant an.

Auch im infizierten Organ selbst konnte Ähnliches beobachtet werden. Stadler (202) beschrieb bei virusinfizierten transplantierten Nieren eine Zunahme von Lymphozyten.

Es scheint somit ein Kennzeichen der viralen Infektion zu sein, daß sie, zumindest bei durch Immunsuppressiva (Kortikosteroide) lymphopenischen Patienten, zu einer Lymphozytose im peripheren Blut führt.

Large Granular Lymphocytes

Das wichtigste Leitkriterium für die Diagnose eines Virusinfektes war in unserem Krankengut die Vermehrung der LGLs (auf mehr als 100 pro mm^3).

Timonen (214) konnte zeigen, daß die meisten Zellen mit NK-Aktivität ihr morphologisches Äquivalent in den LGLs finden. Diese sind zytotoxische Zellen, die ihr "Killerpotential" ohne vorherige Sensibilisierung besitzen (62). Da sie weder Oberflächenmarker für B-Zellen, noch für T-Lymphozyten tragen,

werden sie auch als Null-Zellen bezeichnet (25, 205). Außerdem sind sie nicht adhärent und phagozytieren nicht (17, 89, 90).

Diese NK-Zellen wurden bei einer Reihe von Untersuchungen während VI vermehrt beobachtet (15). Diamond (47), Kirmani (110), Starr (203) und Thong (212) fanden solche NK-Zellen bei Cytomegalie-Infektionen. Auch Gehrz (64) wies Zytotoxizität von LGLs gegen von Cytomegalievirus befallene Zellen nach. Charpentier (34) konnte eine protektive Funktion von Null-Zellen feststellen: Cytomegalievirus infizierte Patienten mit hoher NK-Aktivität hatten bessere Überlebenschancen als solche mit geringer. Durch Mahler (124) konnte eine Vermehrung der LGLs um 83 Prozent belegt werden, wie auch Eggink (50) vermehrte NK-Zellen bei akuter Hepatitis B nachwies. Die Wichtigkeit dieser Zellen zur Abwehr von verschiedenen Virusinfektionen wurde auch von Roder (177) und Abo (1) beschrieben. Weber (232) kam ebenfalls zu dem Ergebnis, daß LGLs primär für die Zytotoxizität bei viralen Infekten verantwortlich seien. Ein Beleg dafür war die prozentuale LGL-Zunahme um fast das zehnfache während solcher Infekte.

NK-Zellen und ihr morphologisches Äquivalent, die LGLs, scheinen als erster Schutzmechanismus gegen virusinfizierte Zellen zu dienen. Übereinstimmend wird von vielen Autoren eine Vermehrung der LGLs

im peripheren Blut beschrieben. Da diese Zellen keine Sensibilisierungsphase durchlaufen müssen, sind sie damit auch die ersten diagnostisch verwertbaren Hinweise für eine virale Infektion.

T 3 positive Zellen

Der zelluläre Arm der Immunantwort ist wesentlich an der Abwehr von Virusinfektionen beteiligt (235).

Unsere Bestimmungen der gesamten peripheren T-Lymphozyten konnten jedoch keine Veränderung der T 3-tragenden Zellen aufdecken.

Auch De Martino (127) fand bei Hepatitis B Infektionen keine Zu- oder Abnahme der T 3-positiven Lymphozyten, ebenso wie Nanni-Costa (146) bei Cytomegalie-Infektionen.

Dagegen konnte Grantana (68) eine Vermehrung der T 3-positiven Zellen nachweisen. Auch Reinherz (169) berichtete über das Auftreten T 3-positiver virusspezifischer Lymphozyten.

Rinaldo (175) beschrieb im Gegensatz dazu einen T-Zell Abfall während der Virämiephase.

Diese widersprüchlichen Ergebnisse lassen vermuten, daß es bei Virusinfektionen zu keinen wesentlichen und bedeutsamen T-Lymphozyten Verschiebungen kommt.

T 4 und T 8 positive Zellen

Das Verhältnis von Helfer- zu Suppressor- und Zytotoxischen Zellen wurde mit einer ganzen Anzahl von menschlichen Krankheiten assoziiert (168).

Wie wir bei unseren Untersuchungen feststellen konnten, ist die beschriebene Verkleinerung des T 4/T 8-Quotienten mit großer Regelmäßigkeit bei viralen Infektionen nachweisbar. Die meisten Autoren, so auch wir, machen für die sinkende T 4/T 8-Ratio in erster Linie eine Vermehrung der T 8-positiven Zellen verantwortlich.

Viele Untersucher (26, 27, 43, 49, 50, 57, 169, 170, 184, 188, 190, 200, 221, 235) berichteten über eine Zunahme von T 8 Lymphozyten ohne wesentliche Veränderung der Helferzellen. Diese T 8 Proliferation soll auch für die starke Immunsuppression, die wiederum zu Sekundärinfektionen führen kann, verantwortlich sein (26, 27, 170, 224). Andererseits korrelierte der T 8 Anstieg mit dem Ausgang von Cytomegalie-Infektionen, hohe T 8 Werte bedingten eine günstige Prognose (178, 235).

Von anderen Autoren wurde eine T 4 Verminderung als Ursache für den fallenden T 4/T 8-Quotienten herangezogen (4, 73, 124, 146, 202, 232).

Nur wenige Untersucher berichteten über unveränderte T 4/T 8-Quotienten bei Virusinfektionen. De Martino (127) konnte bei Hepatitis B, Rinaldo (175) bei

Cytomegalie-Virämie und Waltzer (228) bei verschiedenen Virusinfekten keine T 4/T 8-Erniedrigung finden.

Dagegen wurde von Rinaldo (176), Carney (26) und Schooley (188) sowohl bei normalen als auch bei immunsupprimierten Personen mit Virusinfekten eine Reduktion des T 4/T 8-Quotienten beobachtet (68, 190). Zum gleichen Ergebnis gelangten Kawaguchi (106), Reichenspurner (167), Ertel (54) und Burton (24).

Eine Virusinfektion, die nicht nur lokal begrenzt ist, führt zu einer Abnahme des Quotienten aus Helfer- und Suppressor- bzw. Zytotoxischen Lymphozyten. Dabei dürfte überwiegend der Anstieg der zuletzt genannten Zellen für diese T 4/T 8-Änderung verantwortlich sein.

T 11 positive Zellen

Während wir bei den, durch OKT 3 markierten, gesamten peripheren T-Zellen keine Veränderungen nachweisen konnten, fanden wir bei den T 11-tragenden Lymphozyten eine Zunahme bei Virusinfektionen.

Zu ähnlichen Ergebnissen kam Eggink (50), der bei akuten und chronischen Hepatitis B Infektionen eine vermehrte T 11 Lymphozytenzahl beschrieb.

Auch Kawaguchi (106) wies deutlich erhöhte T 11 Zellwerte bei viralen Infektionen nach. Laut Rossiter (181), der bei Herpes Infektionen eine starke T-Lymphoblastogenese im peripheren Blut entdeckte, tragen 28 bis 35 Prozent dieser Blasten das T 11 Antigen.

Dagegen konnte De Martino (127) bei Hepatitis B Infektionen keine T 11 Veränderungen aufzeigen.

Budillon (22) fand sogar eine verminderte Zahl von T-Rosetten bildenden Zellen und auch Pollard (159) stellte weniger OKT 11-positive Zellen im peripheren Blut fest.

Die Ergebnisse über T 11-positive Zellen während Virusinfektionen sind kontrovers. Gleichwohl wir, wie die meisten anderen Autoren, eine Zunahme dieser Lymphozyten-Subpopulation erkennen konnten, wurden diese Angaben in anderen Veröffentlichungen nicht bekräftigt. Grund dieser Differenzen könnte der Umstand sein, daß diese hohen T 11 Werte nur für kurze Zeit nachweisbar waren.

Ia positive Zellen

Da bei Virusinfektionen die T 8-positiven Zellen stark ansteigen und die meisten dieser Lymphozyten Ia-Antigene exprimieren (55, 234), ist auch ein Anstieg der Ia positiven Zellen zu erwarten.

Normalerweise sind B-Zellen und Monozyten Ia-positiv (234), jedoch bei Aktivierung tragen auch die meisten T-Zellen Ia-Antigene.

Diesen vermuteten Anstieg der Ia-positiven Zellen konnten wir bei unseren Patienten mit viralen Infekten nachweisen.

Gleiche Ergebnisse erzielte Carol (28), der eine prozentuale und absolute Zunahme Ia-positiver T-Zellen entdeckte. Auch bei nicht immunsupprimierten Personen führte eine Virusinfektion zum gleichen Ergebnis (27, 43, 170, 208). Stadler (202) zeigte bei Cytomegalie-Infektionen eine Ia-Zunahme sowohl im peripheren Blut als auch im infizierten Organ.

Nach Miller (135) befällt Epstein-Barr Virus selektiv Ia-tragende B-Zellen und transformiert diese dann proliferierenden Lymphozyten in IgG-sezernierende lymphoblastoide Zellen (14, 105).

Alle Autoren berichten übereinstimmend über eine Zunahme Ia-Antigen tragender Zellen bei Virusinfekten. Diese Vermehrung beruht einerseits auf der Proliferation von B-Zellen und andererseits auf der Aktivierung von T-Zellen (vor allem T 8), die dadurch Ia-positiv werden.

Zusammenfassung

Eine Virusinfektion ist durch folgende Zellfluktuationen im peripheren Blut charakterisiert:

Neben einer Lymphoblastogenese und einer deutlichen Zunahme der absoluten Lymphozyten-Werte ist das Auftreten von Large Granular Lymphocytes für einen viralen Infekt typisch. Verbunden mit einer Proliferation T 8-positiver Zellen ist die Reduktion des T 4/T 8-Quotienten. Während über die gesamten peripheren T-Zellen und die OKT 11 positiven Lymphozyten widersprüchliche Ergebnisse veröffentlicht wurden, ist die Vermehrung von Ia-Antigen tragenden Zellen von allen Autoren übereinstimmend nachgewiesen worden.

5. Z U S A M M E N F A S S U N G

Herztransplantierte Patienten sind einerseits durch Abwehrreaktionen des eigenen Körpers gegen das fremde Organ, andererseits durch eine erhöhte Infektionsgefahr, verursacht durch immunsuppressive Medikamente, vital gefährdet.⁶

Diese Komplikationen können nur beherrscht werden, wenn sie zu einem möglichst frühen Zeitpunkt erkannt werden können.

Deshalb versuchten wir durch Anwendung eines Cytologisch-Immunologischen Monitorings (CIM) eine Frühdiagnose von Abstoßungsreaktionen, bakteriell/mykotischen und viralen Infektionen zu erreichen.

Dabei wurden folgende Untersuchungen durchgeführt:

1. Im mononukleären Konzentrat des peripheren Blutes wurden Lymphozyten, Lymphoblasten, Large Granular Lymphocytes und Juvenile Zellen quantitativ bestimmt.
2. Weitere Lymphozytensubpopulationen wurden durch monoklonale Antikörper differenziert:
 - OKT 3 (gesamte T-Lymphocyten)
 - OKT 4 (Helferzellen)
 - OKT 8 (Suppressor- und Zytotoxische Zellen)
 - OKT 11 (E-Rezeptor positive Zellen)
 - OKT 10 (Vorläufer- und aktivierte Zellen)
 - Oy Medix 5202 (Ia positive Zellen)

Die Auswertung dieser Kriterien erbrachte folgende Ergebnisse:

1. Abstoßungsreaktionen

Einer sprunghaften Zunahme T 10 positiver Zellen folgte nach einigen Tagen eine periphere Lymphoblastogenese. Gleichzeitig stiegen OKT 11 positive Lymphozyten stark an. Im weiteren Verlauf nahmen die Lymphozytenwerte ab, während die Ia-Antigen tragenden Zellen ihren Anteil vergrößern konnten. Da die gesamten T-Lymphozyten konstant blieben, verkleinerte sich dadurch der T 3/Ia-Quotient.

2. Bakterielle Infektionen

Etwa gleichzeitig mit dem Erscheinen von Lymphoblasten im peripheren Blut kam es zu einer Proliferation aktivierter- und Vorläuferzellen. In den nächsten Tagen stiegen die Lymphozytenzahlen an, während der Anteil T 11 positiver Zellen abnahm. Mit fortschreitender Ausbreitung der Infektion erfolgte die Freisetzung unreifer granulopoetischer Vorstufen aus dem Knochenmark.

3. Virale Infektionen

Als erster Hinweis für eine Virusinfektion war ein Anstieg E-Rezeptor tragender Zellen zu finden. Large Granular Lymphocytes, die schon vor den

Lymphoblasten nachweisbar waren, waren der spezifischste Parameter für einen viralen Infekt. Eine Proliferation T 8 positiver Zellen verursachte eine Lymphozytose und eine Reduktion des T 4/T 8-Quotienten. Ausdruck der Aktivierung des Immunsystems durch die Viren war auch die Zunahme T 10 positiver Zellen.

Neben diesen dargestellten Ergebnissen, die bei den einzelnen Aktivierungsursachen zu finden waren, war die Fragestellung einer Differenzierung zwischen diesen Inflammationen von besonderer Bedeutung.

4. Differentialdiagnose

Durch die Ia positiven Zellen war es möglich, Abstoßungsreaktionen von infektiösen Ursachen zu differenzieren. Die Infektionen wiederum ließen sich durch die Bestimmung der Large Granular Lymphocytes leicht unterscheiden.

Neben diesen angeführten Parametern, die sich für die praktisch-klinische Arbeit als sehr zuverlässig erwiesen haben, konnten weitere 16 signifikante Unterscheidungskriterien zur Differentialdiagnose gefunden werden. Diese wurden zusätzlich angewandt, wenn durch die oben angeführten Parameter eine sichere Diagnose nicht gestellt werden konnte.

Unter Berücksichtigung aller dieser Ergebnisse konnte in allen Fällen eine definitive Aussage zur Differentialdiagnose gemacht werden.

Da die Anzahl der transplantierten Patienten relativ gering war, sollten die Ergebnisse durch weitere Untersuchungen überprüft und gegebenenfalls modifiziert und erweitert werden.

Intensive Forschungsarbeit über die Funktionsweise des Immunsystems ist die Voraussetzung für ein Verstehen und damit möglichst gezieltes Eingreifen in die komplexen immunologischen Vorgänge.

Neue spezifische Medikamente (wie z.B. monoklonale Antikörper) sollten es ermöglichen, die Immunreaktionen sehr selektiv zu verändern.

Die Beherrschung der immunologischen Probleme würde der Transplantationschirurgie den entscheidenden Durchbruch zu einer unproblematischen Anwendung auf breiter Basis bringen.

6. ABBILDUNGEN

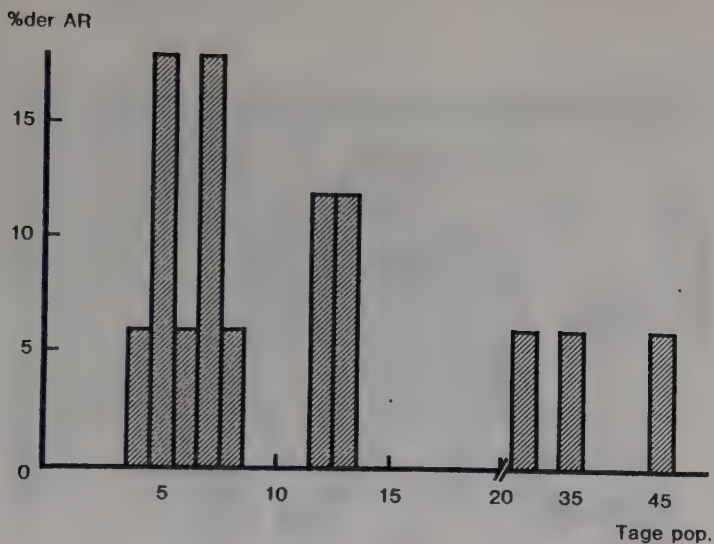


Abb.1: Zeitpunkt der Diagnose von Abstoßungsreaktionen im postoperativen Verlauf

+ Exitus letalis

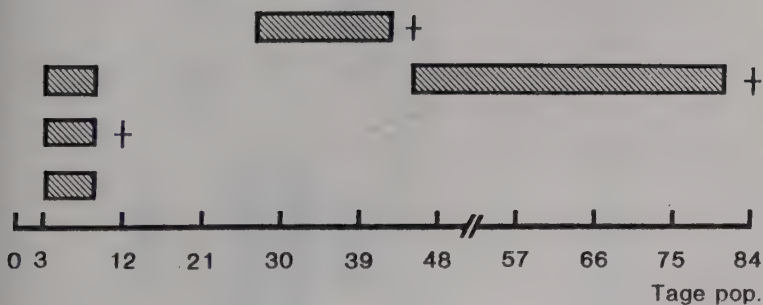


Abb.3: Zeitverteilung des Auftretens und der Dauer von bakteriellen Infektionen

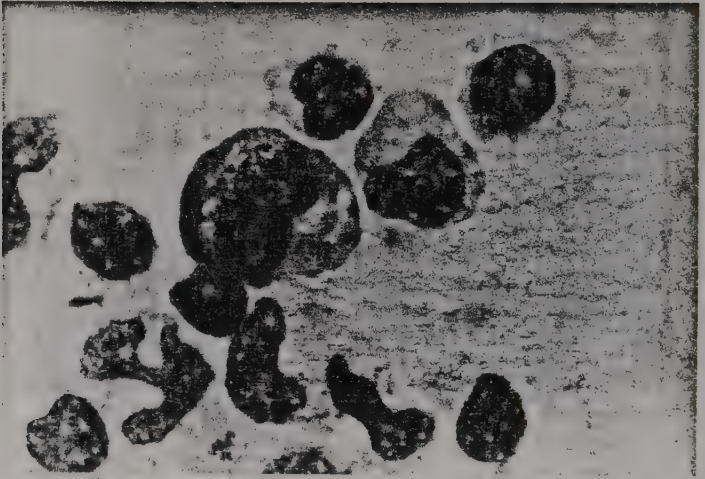


Abb.2: Zellen im mononukleären Konzentrat des peripheren Bluts bei 1000-facher Vergrößerung

- 1 = Lymphozyt
- 2 = Prälymphoblast
- 3 = Lymphoblast
- 4 = Large Granular Lymphocyte
- 5 = Monozyt

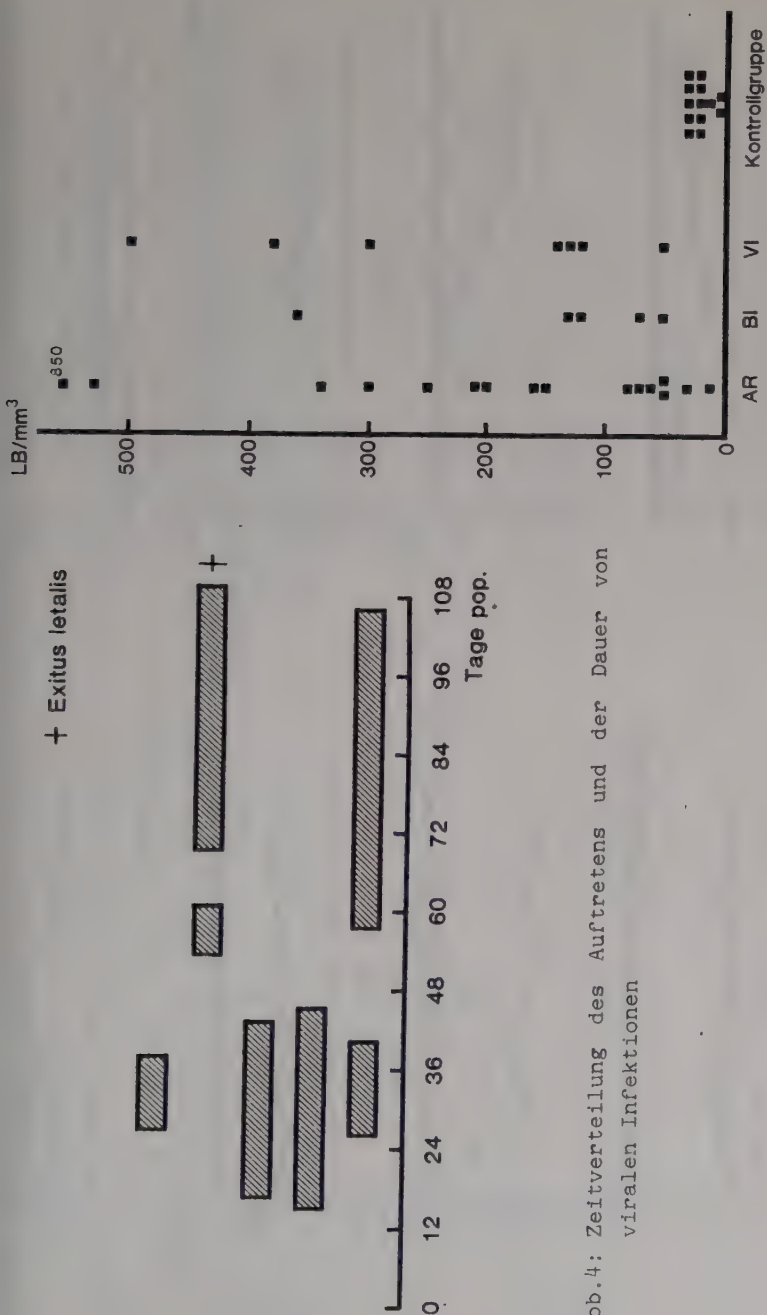


Abb. 4: Zeitverteilung des Auftretens und der Dauer von viralen Infektionen

Abb. 5: Lymphoblastenkonzentration pro mm³ bei Abstoßungsreaktionen, bakteriellen, viralen Infektionen und bei asymptomatischen Patienten

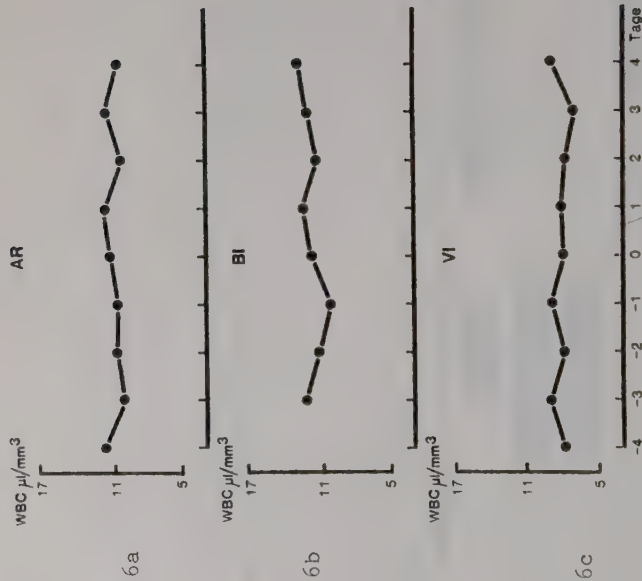


Abb. 6: Leukozytenkonzentration pro mm^3 bei AR, BI und VI von Tag -4 bis Tag +4

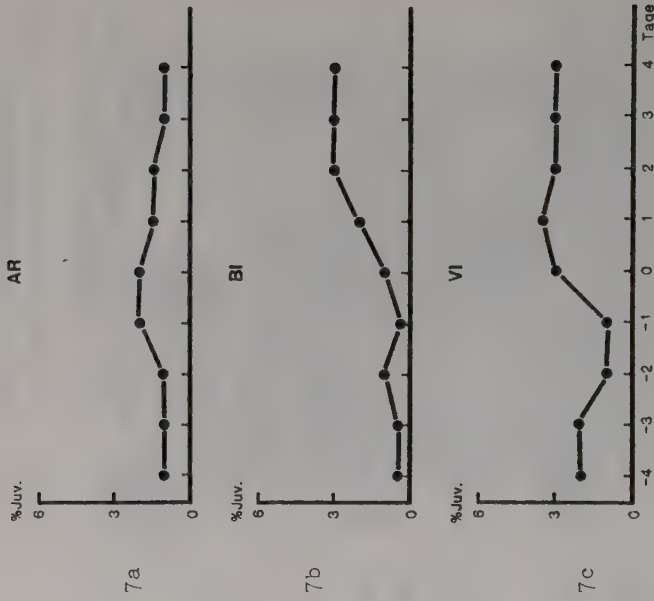


Abb. 7: Prozentsatz juveniler Zellen bei AR, BI und VI von Tag -4 bis Tag +4

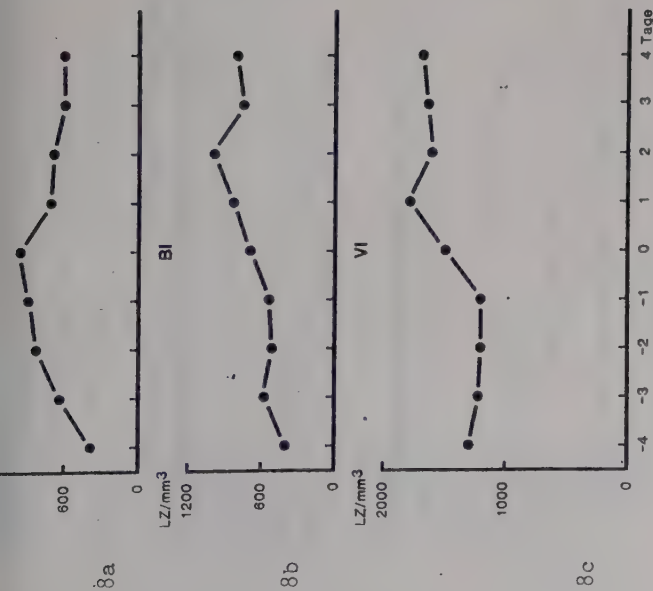


Abb. 8: Lymphozytenkonzentration pro mm³ bei AR, BI und VI von Tag -4 bis Tag +4.

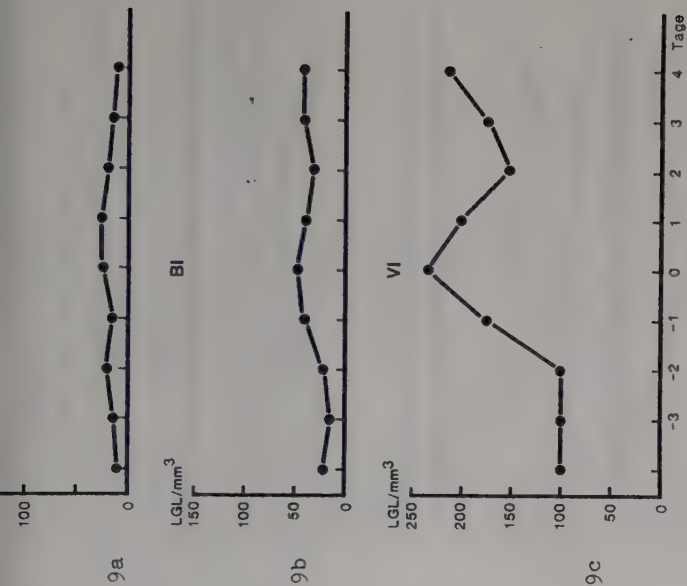


Abb. 9: LGL-Konzentration pro mm³ bei AR, BI und VI von Tag -4 bis Tag +4.

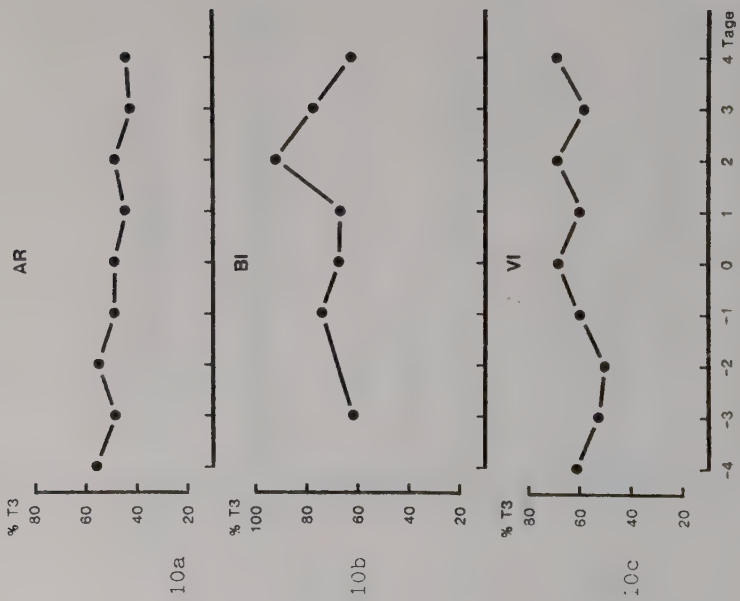


Abb.10: Prozentsatz T 3 positiver Zellen
bei AR, BI und VI von Tag -4
bis Tag +4

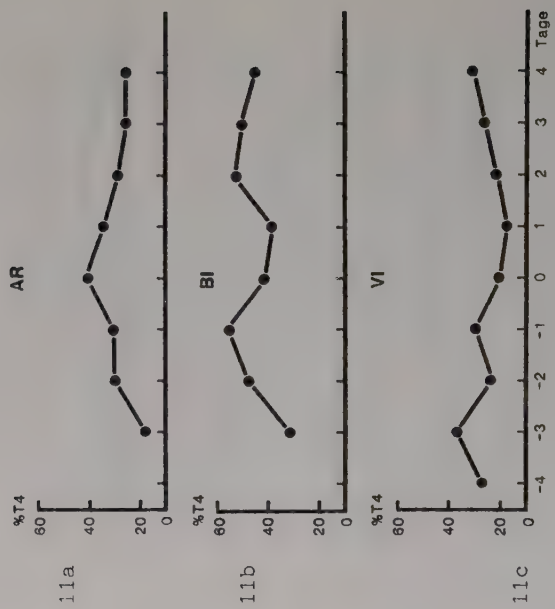


Abb.11: Prozentsatz T 4 positiver Zellen
bei AR, BI und VI von Tag -4
bis Tag +4

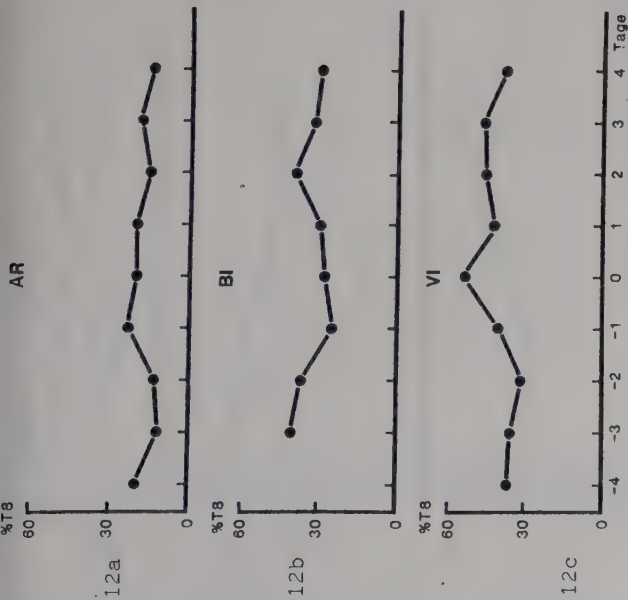


Abb.12: Prozentsatz T 8 positiver Zellen bei AR, BI und VI von Tag -4 bis Tag +4

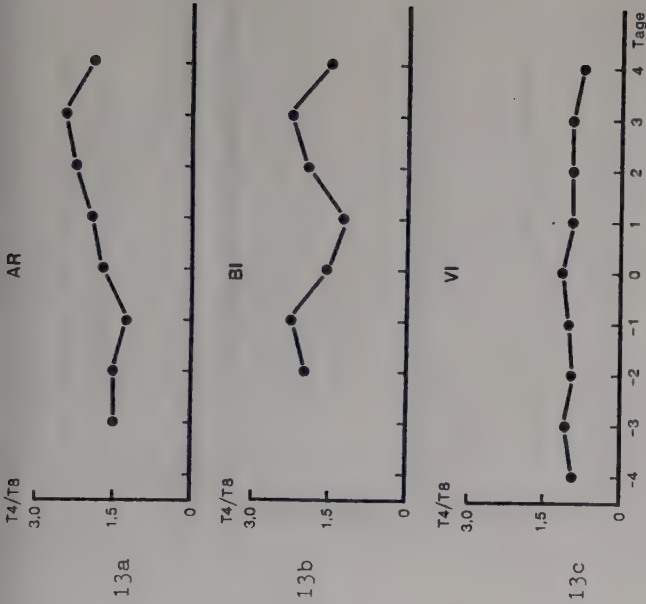


Abb.13: Quotient aus T 4 und T 8 positiven Zellen bei AR, BI und VI von Tag -4 bis Tag +4

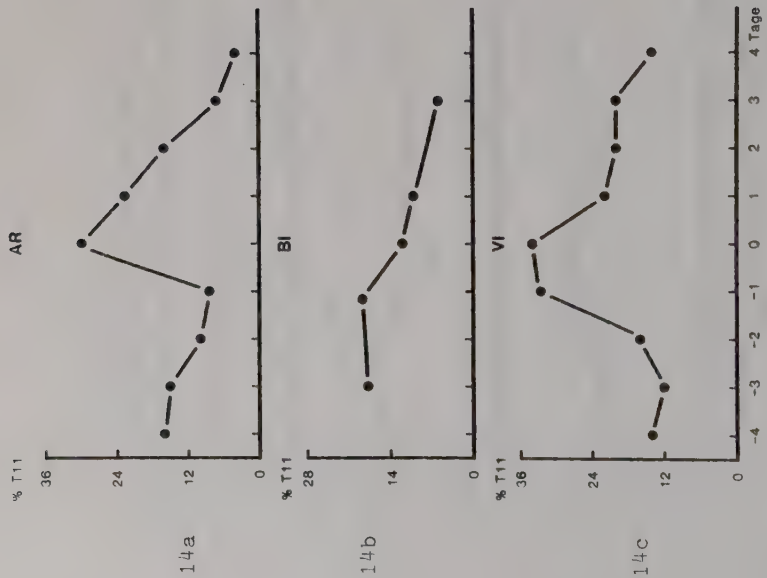


Abb.14: Prozentsatz T 11 positiver Zellen bei AR, BI und VI von Tag -4 bis Tag +4

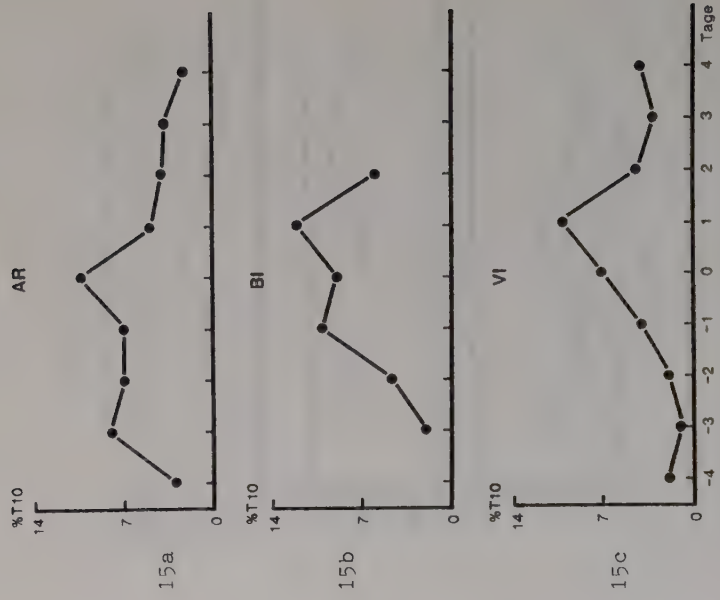


Abb.15: Prozentsatz T 10 positiver Zellen bei AR, BI und VI von Tag -4 bis Tag +4

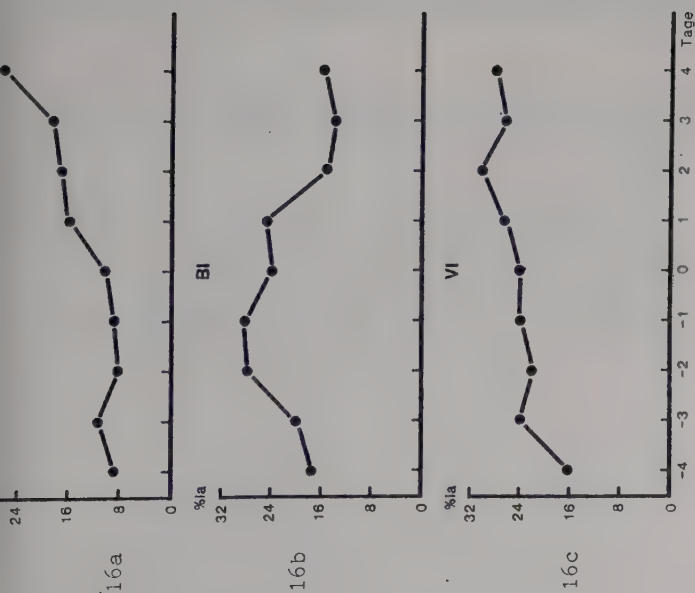


Abb.16: Prozentsatz Ia positiver Zellen bei AR, BI und VI von Tag -4 bis Tag +4

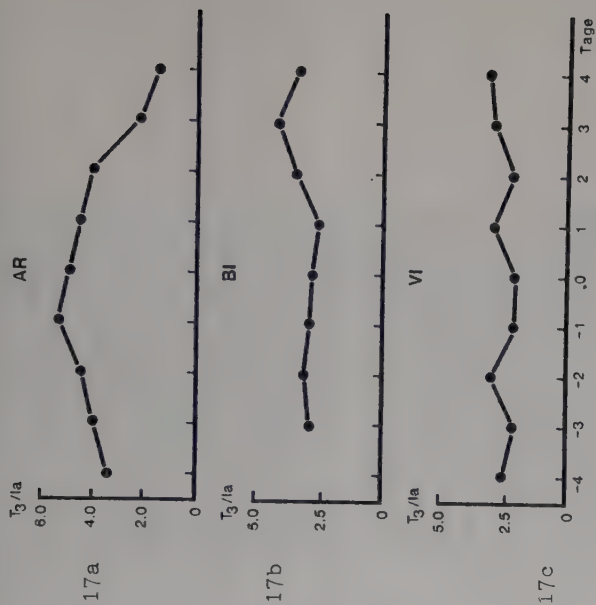


Abb.17: Quotient aus T 3 und Ia positiven Zellen bei AR, BI und VI von Tag -4 bis Tag +4

PARA- METER	DIFFERENTIAL - KRITERIUM	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
LEUKO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
JUV.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LZ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LGL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T3	< 60 VS. > 60%	-	-	-	-	-	+	+	+	-
T4	< 35 VS. > 35%	-	+	+	+	-	-	+	+	+
T8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T4/T8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T10	> 5 VS. < 5%	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Ia	< 20 VS. > 20%	-	+	+	+	+	-	-	-	-
T3/Ia	>4.0VS. < 4.0	-	-	-	+	+	-	-	-	-

Abb.18: Zusammenstellung der Kriterien zur Differenzierung von Abstoßungsreaktionen und bakteriellen Infekten.

An den mit "+" gekennzeichneten Tagen ist die signifikante Unterscheidung zwischen Abstoßungsreaktion und bakteriellem Infekt durch den angegebenen Parameter möglich. (Rangsummentest nach Wilcoxon, Mann und Withney, 0,05)

PARAMETER	DIFFERENTIAL-KRITERIUM	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
LEUKO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
JUV.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LZ	<1000 VS. >1000/mm ³	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LGL	< 100 VS. > 100/mm ³	+	+	+	+	+	+	+	+	+
T3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T8	>30 VS. <30 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+
T4/T8	> 1,2 VS. < 1,2	-	-	-	-	-	+	+	+	+
T11	>24 VS. <24 %	-	-	-	+	-	-	-	-	-
T10	> 5 VS. < 5 %	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Ia	>20 VS. <20 %	-	+	+	+	+	-	-	-	-
T3/Ia	> 4,0 VS. < 4,0	-	-	-	+	+	-	-	-	-

Abb.19: Zusammenstellung der Kriterien zur Differenzierung von Abstoßungsreaktionen und viralen Infekten.

An den mit "+" gekennzeichneten Tagen ist die signifikante Unterscheidung zwischen Abstoßungsreaktion und viralem Infekt durch den angegebenen Parameter möglich. (Rangsummentest nach Wilcoxon, Mann und Withney, 0,05)

PARA-METER	DIFFERENTIAL-KRITERIUM	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
LEUKO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
JUV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LZ	<1000 VS.> 1000/mm ³	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LGL	< 100 VS.> 100/mm ³	+	+	+	+	+	+	+	+	+
T3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T4	>35 VS.<35 %	-	-	-	-	-	+	+	+	-
T8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T4/T8	> 1,2 VS.< 1,2	-	-	-	-	-	-	+	+	+
T11	<24 VS.>24 %	-	-	-	+	-	-	-	-	-
T10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T3/Ia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Abb.20: Zusammenstellung der Kriterien zur Differenzierung von bakteriellen und viralen Infekten.

An den mit "+" gekennzeichneten Tagen ist die signifikante Unterscheidung zwischen bakteriellen und viralen Infektionen durch den angegebenen Parameter möglich. (Rangsummentest nach Wilcoxon, Mann und Withney, 0,05)

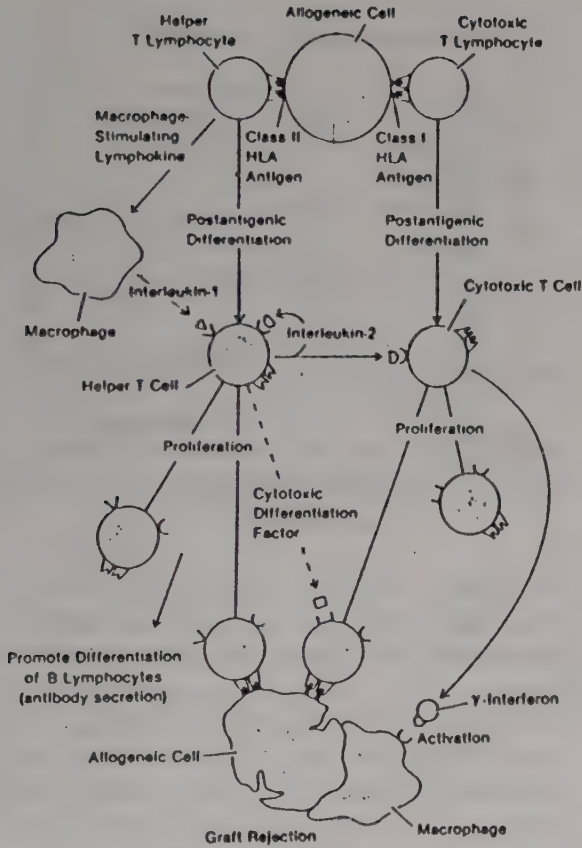


Abb.21: Modellvorstellung über die zellulären und humoralen Interaktionen des Immunsystems bei Abstoßungsreaktionen.
(Nach Strom et al.: The cellular and molecular basis of allograft rejection: Fact and fancy. Transpl. Proc., Vol.XVII, No.1, 1985)

VIROLOGY AND IMMUNOBIOLOGY OF LCMV INFECTION

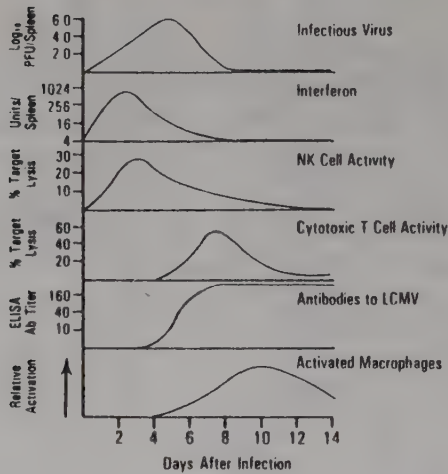


Abb.22: Zeitlicher Ablauf von körpereigenen Mechanismen zur Abwehr von Virusinfektionen.

(nach Buchmeier M.J. et al.: Virus titer, nonspecific and specific host response following inoculation of lymphocytic choriomeningitis virus (virus) in adult mice. In: Notkins A.L., Oldstone M.B.A.: Concepts in viral pathogenesis, Springer Verlag, 1984)

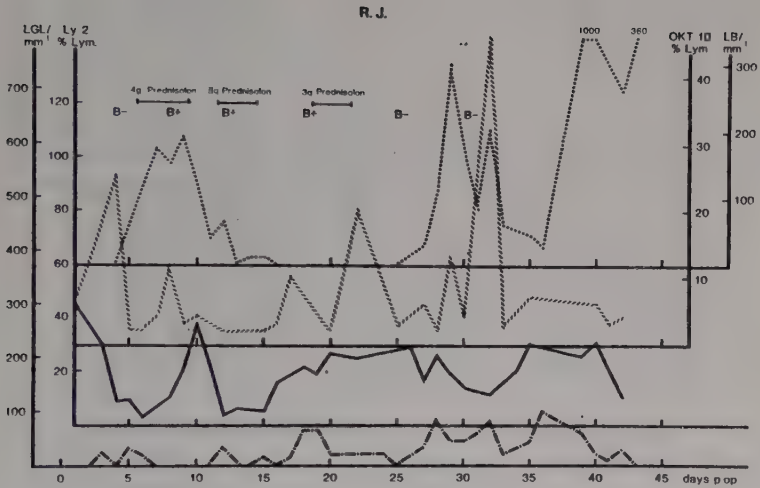


Abb.23: Postoperativer Verlauf der Lymphoblasten, T 10 und Ia positiven Zellen und der Large Granular Lymphocytes bei einem Patienten mit einer Abstoßungsreaktion und einem bakteriellen/mykotischen Infekt

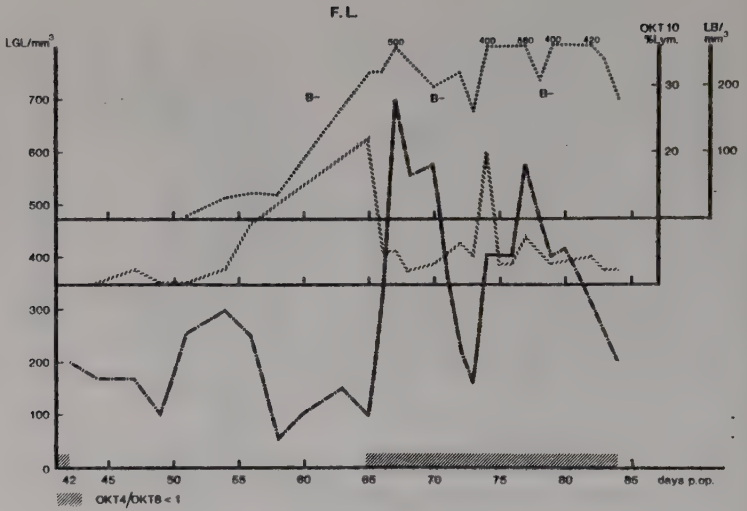


Abb.24: Postoperativer Verlauf der Lymphoblasten, T 10 positiven Zellen und Large Granular Lymphocytes bei einem Patienten mit Cytomegalievirus Infektion

7. Literaturverzeichnis

- (1) ABO T., BALCH C.M.:
A differentiation antigen of human NK and K cells identified by a monoklonal antibody (HNK-1).
J Immunol. 127:1024, 1981
- (2) ANDERSSON U., BIRD G., BRITTON S.:
Cellular mechanism of restricted immunoglobulin formation in the human neonate.
Eur. J. Immunol. 10:888, 1980
- (3) ANDERSSON U., BIRD G., BRITTON S., PALACIOS R.:
Humoral and cellular immunity in humans studied at the cell level from birth to two years of age.
Immunol. Rev. 57:5, 1981
- (4) BARNABA V., MUSCA A., CORDOVA C., LEVRERO M., RUOCCO G., ALBERTINI-PETRONI V., BALSANO F.:
Relationship between T cell subsets and suppressor cell activity in chronic hepatitis B virus (HBV) infection.
Clin. Exp. Immunol. 53:281-288, 1983
- (5) BARNARD C.N.:
The Operation. A human cardiac transplantation: An interim report of the successful operation performed at Groote Schuur Hospital, Cape Town.
S. Afr. med. J. 41:1271, 1967
- (6) BARNARD C.N.:
Human cardiac transplantation. An evaluation of the first two operations performed at the Groote Schuur Hospital, Cape Town.
Amer. J. Cardiol. 22:584, 1968

- (7) BAUMGARTNER W.A., REITZ B.A., OYER P.E., STINSON N.E., SHUMWAY N.E.:
Cardiac homotransplantation.
Curr. Probl. Surg. 16:3, 1979
- (8) BEGEMANN H., RASTETTER J.:
Atlas of Clinical Hematology.
Dritte Auflage, Springer Verlag, 1978
- (9) BETTS R.F., FREEMAN R.B., DOUGLSA R.B., TALLEY T.E.:
Clinical manifestations of renal allograft derives primary cytomegalo-virus infection.
Am. J. Dis. Child 131:759, 1977
- (10) BIDDISON W.E., RAO P.E., TALLE M.A.:
Possible involvement of the T 4 molecule in T cell recognition of class II HLA antigens: Evidence from studies of proliferative responses to SB antigens.
J. Immunol. 131:152, 1983
- (11) BIEBER C.P., GRIEPP R.P., OYER P.E.:
Relationship of rabbit ATG serum clearance rate to circulating T-cell level, rejection onset, and survival in cardiac transplantation.
Transplant. Proc. 9:1031-1036, 1977
- (12) BILLINGHAM M.E.:
Some recent advances in cardiac pathology.
Hum. Pathol. 10:367-386, 1979
- (13) BINKLEY W.F., VALENZUELA R., BRAUN W.E., DEODHAR S.D., NOVICK A.C., STEINMULLER D.R.:
Flow cytometry quantation of periphpal blood T-cell subsets in human renal allograft recipients.
Transpl. Proc., Vol.XV, No.1, 1983

- (14) BIRD A.G., BRITTON S.:
A new approach to the study of human B lymphocyte function using an indirect plaque assay and a direct B cell activator.
Immunol. Rev. 45:41, 1979
- (15) BIRON C.A., WELSH R.M.:
Activation and role of natural killer cells in virus infections.
Med. Microbiol. Immunol. 170:155, 1982
- (16) BLOOM B.R., MEHRA V.:
The pathogenesis of lepromatous leprosy.
Exc. Med. 574:128, 1981
- (17) BLOOM B.:
Natural killer cells to rescue immunosurveillance?
Nature 300:214-215, 1982
- (18) BODGER M.P., FRANCIS G.E., DELIA D.:
A monoclonal antibody specific for immature human hemopoietic cells and T lineage cells.
J. Immunol. 127:2269, 1981
- (19) BOGERTY S., REITZ B.A., STINSON E.B., SHUMWAY N.E.:
Cardiac transplantation. Practice of surgery.
Cardiovascular Surgery, Harper & Row, Hagerstown, 1979
- (20) BOREL J.F., FEURER C., GUBLER H.U., STAHELM H.:
Biological effects of cyclosporin-A. A new anti-lymphocytic agent.
Agents and Actions 6:468, 1976
- (21) BUCHBORN E.:
Organtransplantation unter Cyclosporin A.
Internist 26:529, 1985

- (22) BUDILLON G., SCALA C., DONOFRIO S., CASSONO S.,
De RIT F.:
Diminished active T rosette levels and increased
spontaneous B lymphocyte blastogenesis in hepatitis
B virus positive chronic active hepatitis.
Clin. Exp. Immunol. 52:472-476, 1983
- (23) BUNJES D., HARDT C., RÖLLINGHOFF M., WAGNER H.:
Cyclosporin A mediates immunosuppression of primary
cytotoxic T cell responses by impairing the release
of interleukin 1 and interleukin 2.
Europ. J. Immunol. 11:657, 1981
- (24) BURTON R.C., COSIMI A.B.:
Human T lymphocyte subpopulations: Their role in
rejection and immunosuppression.
Transpl. Proc., Vol.XV, No.1, 1983
- (25) CARAUX J., SERROU B., WEIGLE W.O.:
Natural killer activity: Effector cells in purified
human T or null cells have different phenotypes
defined by monoclonal antibodies.
Cell. Immunol. 74:404, 1982
- (26) CARNEY W.P., RUBIN R.H., HOFFMAN R.A., HANSEN W.P.,
HEALEY K., HIRSCH M.S.:
Analysis of T lymphocyte subsets in cytomegalovirus
mononucleosis.
J. Immunol. 126:2114, 1981
- (27) CARNEY W.P., IACOVIELLO V., HIRSCH M.S.:
Functional properties of T lymphocytes and their
subsets in cytomegalovirus mononucleosis.
J. Immunol. 130:390, 1983

- (28) CAROL M., TOOLE O., GRACAS, CARVALHO, CRANAGE M.P.,
LARGE S.:
Immun responses in cardiac transplantation. Detection
of activated T1a+ cells in the blood during herpes
virus infections.
Clin. Exp. Immunol. 58:671, 1984
- (29) CARTER N.P., CULLEN P.R., THOMPSON J.F., BEWICK
A.L.T., WOOD R.F.M., MORRIS P.J.:
Monitoring lymphocyte subpopulations in renal
allograft recipients.
Transpl. Proc., Vol.XV, No.1, 1983
- (30) CAVES P.K., STINSON E.B., BILLINGHAM E.B.:
Diagnosis of human cardiac allograft rejection by
serial cardiac biopsy.
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 66:161, 1973
- (31) CAVES P.K., SCHULZ W.P., DONG E., STINSON E.B.,
SHUMWAY N.E.:
New instrument for transvenous cardiac biopsy.
Amer. J. Cardiol. 33:264, 1974
- (32) CHANG A.E., SUGARBAKER P.H.:
Assessment of T cell function with a skin allograft
assay.
Transplantation 29:381, 1980
- (33) CHARPENTIER B.:
Mechanism of rejection: Update 1982.
Transpl. Proc., Vol.XV, No.1, 1983
- (34) CHARPENTIER B., FRIES D., LANG P.H., MARTIN B.,
RAGUIN G., PRUTCHANSKY A.:
Natural killer activity during cytomegalovirus
infection in kidney transplant recipients.
Transpl. Proc., Vol.XV, No.1, 1983

- (35) CHATENOU D. L., KREIS L., JUNGERS P.:
The effect of immunosuppressive agents on T-cell subsets, as evaluated by use of monoclonal anti-T-cell antibodies.
Transpl. Proc. 13:1651, 1981
- (36) CHATENOU D. L., CHKOFF N., KREIS H.:
Interest in and limitations of monoclonal anti-T-cell antibodies for the follow-up of renal transplant recipients.
Transplantation 36:45, 1983
- (37) CHEESEMAN S.H., RUBIN R.H., STEWARD J.A.:
Controlled clinical trial of prophylacted human leukocyte interferon in renal transplantation.
N. Engl. J. Med. 300:1345, 1979
- (38) CITTERIO F., CASTAGNETO M., POZZETTO U., NANNI G., LUCIANI G., AGNES S., TAZZA L., MAGALINI S., CASTIGLIONI G.C.:
T lymphocyte subsets in cyclosporine-treated renal allograft recipients.
Transpl. Proc., Vol.XVII, Suppl.2, 1985
- (39) CLARK D.A., STINSON E.B., GRIEPP R.B., SCHROEDER N.E., SHUMWAY N.E., HARRISON D.C.:
Cardiac transplantation in man. Prognosis of patients selected for cardiac transplantation.
Ann. Intern. Med. 75:15, 1971
- (40) CLEASSON K., FORSUM U., KLARESKOG E., LARSSON E., FÖDIN L., TUFVESON G.:
T cell subsets and Ia-expressing cells in transplanted rat kidneys.
Transpl. Proc., Vol.XVII, No.1, 1985

- (41) COSIMI A.B., COLVIN R.B., BURTON H.J.:
Use of monoclonal antibodies to T-cell subsets for immunologic monitoring and treatment in recipients of renal allografts.
N. Engl. J. Med. 305:308, 1981
- (42) COSIMI A.B., COLVIN R.B., BURTON R.C.:
Immunologic monitoring with monoclonal antibodies to human T-cell subsets.
Transpl. Proc. 13:1589, 1981
- (43) CRAWFORD D.H., BRICKELL P., TIDMAN N., McCONNELL I., HOFFBRAND A.V., JANOSSY G.:
Increased numbers of cells with suppressor T cell phenotype in peripheral blood of patients with infectious mononucleosis.
Clin. Exp. Immunol. 43:291, 1981
- (44) CUDKOWICZ D., HOCHMAN P.S.:
Do natural killer cells engage in regulated reactions against self to ensure homeostasis?
Immunol. Rev. 44:13, 1979
- (45) DANIEL V., OPELZ G., DREIKORN K.:
Lymphocyte subset monitoring in renal transplant recipients.
Transpl. Proc., Vol.XVI, No.6, 1984
- (46) DEVINENI R., MCKENZIE N., KEOWN P., STILLER C., HELLSTROM A., BANERJEE D.:
Immunologic monitoring in cardiac transplantation.
Transpl. Proc., Vol.XVI, No.6, 1984
- (47) DIAMOND R.D., KELLER R., LEE G., FINKEL D.:
Lysis of cytomegalovirus-infected human fibroblasts and transformed human cells by peripheral blood lymphoid cells from normal donors.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 154:259, 1977

- (48) DUMMER J.S., BAHNSON H.T., GRIFFITH B.P., HARDESTY R.L., THOMPSON M.E., HO M.:
Infections in patients on cyclosporine and prednisone following cardiac transplantation.
Transpl. Proc., Vol.XV, No.4, Suppl.1, 1983
- (49) DUMMER J.S., HO M., RABIN B., GRIFFITH B.P., HARDESTY R.L., BAHNSON H.T.:
The effect of cytomegalovirus and Epstein-Barr virus infection on T lymphocyte subsets in cardiac transplant recipients on cyclosporin A.
Transplantation 38:433, 1984
- (50) EGGINK H.F., HOUTHOF H.J., HUITEMA S., WOLTERS G., POPPEMA S., GIPS C.H.:
Cellular and humoral reactions in chronic liver disease. Lymphocyte subsets and viral antigens in liver biopsies of patients with acute and chronic hepatitis B.
Clin. Exp. Immunol. 56:121, 1983
- (51) ELLIS T.M., LEE H.M., MOHANAKUMAR T.:
Alterations in human regulatory T lymphocyte subpopulations after renal allografting.
J. Immunol. 127:2199, 1981
- (52) ELLIS T.M., BERRY C.R., MENDEZ-PICON G.:
Immunological monitoring of renal allograft recipients using monoclonal antibodies to human T lymphocyte subpopulations.
Transplantation 33:317, 1982
- (53) ENGLEMAN E.G., BENIKE C.J., GRUMET F.C.:
Activation of human T lymphocyte subsets: Helper and suppressor/cytotoxic T cells recognize and respond to distinct histocompatibility antigens.
J. Immunol. 127:2124, 1981

- (54) ERTEL W., REICHENSPURNER H., HAMMER Č., LERSCH C.,
PLAHL M., BRENDEN W., REICHART B., KEMPKES B.M.,
REBLE B., GOKEL J.M.:

Cytoimmunologic monitoring: A method to reduce biopsy
frequency after cardiac transplantation.

Transpl. Proc., Vol.XVII, No.1, 1985

- (55) EVANS R.L., FALDETTA T.J., HUMPHRYS R.E., PRATT
D., YUNIS E.J., SCHLOSSMAN S.F.:

Peripheral human T cells sensitized in mixed
leukocyte culture synthesise and express Ia-like
antigens.

J. Exp. Med. 148:1440, 1978

- (56) FARRAR W.L., JOHNSON H.M., FARRAR J.J.:

Regulation of the production of immune interferon
and cytotoxic T lymphocytes by Interleukin 2.

J. Immunol. 126:1120, 1981

- (57) FAVROT M., JANOSSY G., TIDMAN N., BLACKLOCK H.,
LOPEZ E., BOFILL M., LAMPERT I., MORGENSTERN G.,
FOWLES R., PRENTICE H.G., HOFFBRAND A.V.:

T cell regeneration after allogeneic bone marrow
transplantation.

Clin. Exp. Immunol. 54:59, 1983

- (58) FIALA M., PAYNE J.E., BERNE T.V., MOORE T.C., HENLE
W., MONTGOMERY J.Z., CHATTERJEE S.N., GUZE L.B.:

Epidemiologie of cytomegalo-virus infection after
transplantation and immunosuppression.

J.Infect. Dis. 132:421, 1975

- (59) FORBES R.D.C., GUTTMAN R.D., GOMERSALL M.:

Leukocyte subsets in first-set rat cardiac allograft
rejection.

Transplantation 36:681, 1983

- (60) FORTIER B., NICOLAS J.C., BURGUIERE A.M.:
Renal transplantation and viral infections. A survey
of herpes simplex virus excretion in relation to
cellular specific immunity and humoral immunity
among renal transplant recipients.
Biomed. 28:328, 1978
- (61) FREED B., WALSH A., PIETROCOLA D., McDOWELL R.,
LEMPERT N.:
A simple and inexpensive cytotoxic assay for
enumeration of OKT 3+, OKT 4+, and OKT 8+ cells
in renal allograft recipients.
Transpl. Proc., Vol.XV, No.3, 1983
- (62) GARVOY M.R., CARPENTER C.B.:
Manual of clinical immunology.
Amer. Soc. Microbiol., p 293, 1980
- (63) GAUDIANI V.A., STINSON E.B., ALDERMAN E.:
Long-term survival and function after cardiac
transplantation.
Ann. Surg. 194:381, 1981
- (64) GEHRZ R.C., RUTZICK S.R.:
Cytomegalovirus-specific lysis of CMV-infected target
cells can be mediated by both NK-like and virus-
specific cytotoxic T-lymphocytes.
Clin. Exp. Immunol. 61:80, 1985
- (65) GILLIS S., BAKER P.E., RUSCETTI F.W.:
Long-term culture of human antigen-specific cytotoxic
T-cell lines.
J. Exp. Med. 148:1093, 1978
- (66) GILLIS S., MOCHIZUKI D.Y., COLON P.J.:
Molecular characterization of Interleukin 2.
Immunol. Rev. 63:167, 1982

(67) GLENN J.:

Cytomegalovirus infections following renal transplantation.

Rev. Infect. Dis. 132:421, 1981

(68) GRATAMA J.W., MIDDELDORP J.M., VAN DER MEER J.W.M.,
JANSEN J., ZWAAN F.E., BRAND A., TANKE H.J., LANGLOIS
VAN DEN BERGH R., De GAST G.C., THE T.H.:

Immune reactivity in relation to cytomegalovirus infection after allogeneic bone marrow transplantation.

Transpl. Proc., Vol.XVII, No.1, 1985

(69) GREEN W.F., NIBLACK G.D., MacDONELL R.C.L., JOHNSON
H.K., RICHIE R.C.:

Altered B lymphocyte levels in the peripheral blood of renal allograft recipients undergoing rejection.

Transpl. Proc., Vol.XVII, No.1, 1985

(70) GRIEPP R.B., STINSON E.B., DONG E., CLARK D.A.,
SHUMWAY N.E.:

Determinants of operative risk in human heart transplantation.

Amer. J. Surg. 122:192, 1971

(71) GUILLOU P.S., HEGARTY J., RAMSDEN C.:

Changes in human natural killer activity early and late after renal transplantation using conventional immunosuppression.

Transplantation 33:414, 1982

(72) GUTTMAN R.D., POULSEN R.:

Fluorescence activated cell sorter analysis of lymphocytes following renal allotransplantation.

Transpl. Proc. 13:1579, 1981

- (73) GUTTMAN R.D., POULSEN R.S.:
Fluorescence activated cell sorter analysis of lymphocyte subsets after renal transplantation.
Transpl. Proc., Vol.XV, No.1, 1983
- (74) GUTTMAN R.D., POULSEN R.S.:
FACS analysis of lymphocyte subsets after renal transplantation: Clinical correlates and evidence for reduced expression of antigen density associated with chronic immunosuppression.
Transpl. Proc., Vol.XV, No.3, 1983
- (75) HALL B.M., BISHOP G.A., FARNWORTH A.:
Identification of the cellular subpopulations infiltrating rejecting cadaver renal allografts. Preponderance of the T 4 subset of T cells.
Transplantation 37:564, 1984
- (76) HAMMER C., LAND W., HILLEBRAND G.:
Fine needle biopsy and aspiration cytology as control for renal rejection episodes.
Chir. Forum Exp. Klin. Forsch. 82:17, 1982
- (77) HAMMER C., LAND W., STADLER J., KOLLER C., BRENDDEL W.:
Lymphocyte subclasses in rejecting kidney grafts detected by monoclonal antibodies.
Transplant. Proc., Vol.XV, No.1, 1983
- (78) HAMMER C., ERTEL W., REICHENSPURNER H., BRENDDEL W.:
Immunologische Reaktionen nach Herztransplantation und ihr Nachweis.
Fortschr. Med. 101:2041, 1983

- (79) HAMMER C., REICHENSPURNER H., ERTEL W., LERSCH C.,
PLAHL M., BRENDEN W., REICHART B.:
Cytological and immunologic monitoring of cyclo-
sporine-treated human heart recipients.
Heart Transpl., Vol.III, No.3, 1984
- (80) HAMMER C., LERSCH C., PLAHL M., LEHMANN M., REICHEN-
SPURNER H., ERTEL W., KROMBACH F., FINKENSTEIN J.V.,
REBLE B., KEMKES B.M., REICHART B., SCHÖDEL F.,
BRENDEN W.:
Rapid differential diagnosis between cardiac graft
rejection, virus- or bacterial infections in
patients' peripheral blood.
Forty-sixth Annual Meeting and Sixth Tripartite
Meeting, The Harvard Medical School, 1985
- (81) HAMMER C., LERSCH C., PLAHL M., LEHMANN M., REICHEN-
SPURNER H., KROMBACH F., FINCKENSTEIN J.V., KEMKES
B.M., ÖSTERHOLZER G., REBLE B., ERTEL W., SCHÖDEL
F., BRENDEN W.:
Immunocompetent cells in the peripheral blood of
heart transplanted patients during rejection crisis,
virosis or bacterial-/fungal-infection.
Third International Workshop on Transplant Aspiration
Cytology, Mayrhofen, 1985
- (82) HANCOCK W.W., THOMSON N.M., ATKINS R.C.:
Monoclonal antibody analysis of interstitial cell
infiltrate during human renal allograft rejection.
Transpl. Proc., Vol.XV, No.1, 1983
- (83) HANCOCK W.W., THOMSON M.N., ATKINS R.C.:
Composition of interstitial cellular infiltrate
identified by monoclonal antibodies in renal biopsies
of rejecting human renal allografts.
Transplantation 35:458, 1983

- (84) HARDY J.D., CHAVEZ C.M., KURRUS F.D., NEELY W.A., ERASLAN S., TURNER M.D., FABIAN L.W., LABECKI T.D.:
Heart transplantation in man: developmental studies and report of a case.
J. Amer. Med. Ass. 118:1132, 1964
- (85) HARDY A.M., WAJSZCZUK C.P., HAKALA T.R., ROSENTHAL J.T., STARZL T.E., HO M.:
Infection in renal transplant recipients on cyclosporine: Pneumocystis pneumonia.
Transpl. Proc., Vol.XV, No.4, Suppl.1, 1983
- (86) HÄYRY P.:
Inflammatory response in allograft rejection.
Transpl. Proc. 15:1897, 1983
- (87) HAYWARD A.R., LYDYARD P.M.:
Suppression of B lymphocyte differentiation by newborn T lymphocytes with a FC receptor for IgM.
Clin. Exp. Immunol. 34:374, 1978
- (88) HEBERMAN R.B., DJEU J.Y. KAY D., ORTALDO J.R., RICCARDI C., BONNARD G.D., HOLDEN H.T., FAGNANI R., SANTOLI A., PUCCETTI P.:
Natural killer cells: characteristics and regulation of activity.
Immunol. Rev. 44:43, 1979
- (89) HERBERMAN R.B., ORTALDO J.R.:
Natural killer cells: Their role in defenses against disease.
Science 214:24, 1981
- (90) HEBERMAN E.B.:
NK cells and other natural effector cells.
Academic Press, New York, 1982

- (91) HEBERMAN R.B.:
Natural killer cells and their possible relevance
to transplantation biology.
Transplantation 34:1, 1982
- (92) HEEG K., DEUSCH K., SOLBACH W., BUNJES D., WAGNER
H.:
Frequency analysis of cyclosporine-sensitive cyto-
toxic T lymphocyte precursors.
Transplantation 38:532, 1984
- (93) HEFENEIDER S.H., CANLON P.J., HENNEY C.S.:
In vivo interleukin 2 administration augments the
generation of alloreactive cytolytic T lymphocytes
and resident natural killer cells.
J. Immunol. 130:222, 1983
- (94) HELLING T.S., CROSS D.E.:
Identification of renal allograft rejection using
selected monoclonal antibodies to human lymphocyte
subsets.
Transpl. Proc., Vol.XVI, No.6, 1984
- (95) HENNEY C.S., Kern D.E., GILLIS S.:
Cytotoxic responses: The regulatory influence of
interleukin 2.
Transpl. Proc., Vol.XIV, No.3, 1982
- (96) HERSH E.M., BUTLER W.T., ROSSEN R.D.:
In vitro studies of the human response to organ
allografts: appearance and detection of circulating
activation lymphocytes.
J. Immunol. 107:571, 1971
- (97) HESS A.D., DONNENBERG A.D., ENGEL P., TUTSCHKE P.J.,
SANTOS G.W.:
Suppressor cell circuitry in cyclosporine treated
MLR cultures.
Transpl. Proc. 15:2343, 1983

- (98) HO M.:
Virus infections after transplantation in man.
Brief review.
Arch. Virol. 55:1, 1977
- (99) HO M.:
Cytomegalovirus, biology and infection.
New York, Plenum, 1982
- (100) HO M., WAJSZCZUK C.P., HARDY A., DUMMER J.S., STARZL T.E., HAKALA T.R., BAHNSON H.T.:
Infections in kidney, heart, and liver transplant recipients on cyclosporine.
Transpl. Proc., Vol.XV, No.4, Suppl.1, 1983
- (101) HOSHINAGA K., MOHANAKUMAR T., GOLDMAN M.H., WOLFGANG T.C., SZENTPETERY S., LEE H.M., LOWER R.R.:
In situ identification of mononuclear cells in heart biopsies and correlation with allograft status.
Transpl. Proc., Vol.XVII, No.1, 1985
- (102) HUGHES W.T., SMITH B.:
Provocation of infection due to *Pneumocystis carinii* by cyclosporin A.
J. Infect. Dis. 145:767, 1982
- (103) JAMIESON S.W., STINSON E.B., SHUMWAY N.E.:
Cardiac transplantation in 150 patients at Stanford University.
Brit. Med. J. 1:93, 1979
- (104) JAMIESON S.W., BURTON N.A., QYER P.E., REITZ B.A., STINSON E.B., SHUMWAY N.E.:
Cardiac allograft survival in primates treated with CY-A.
Lancet 1:545, 1979

- (105) JONDAL M., KLEIN G., OLDSTONE M.B.A., BOKISH V., YEFENOF E.:
Surface markers on human B and T lymphocytes.
Association between complement and Epstein-Barr virus receptors on human lymphoid cells.
J. Immunol. 5:401, 1976
- (106) KAWAGUCHI A., GOLDMAN M.H., HOSHINAGA K., POSNER M., PAGE S., MENDEZ-PICON B., LEE M.H., SZENTPETERY S., WOLFGANG T., DUCEY K., MOHANAKUMAR T., LOWER R.:
Monitoring of lymphocyte subpopulations in Cyclosporine- and Azathioprin-treated cardiac allograft recipients.
Transpl. Proc., Vol.XVI, No.6, 1984
- (107) KERMAN R.H., FLECHNER S.M., VAN BUREN C.T., PAYNE W., KAHAN B.D.:
Immunologic monitoring of renal allograft recipients treated with cyclosporine.
Transpl. Proc., Vol.XV, No.4, Suppl.1, 1983
- (108) KERMAN R.H., VAN BUREN C.T., PAYNE W., FLECHNER S., KAHAN B.D.:
Monitoring of T-cell subsets and immune events in renal allograft recipients.
Transpl. Proc., Vol. XV, No.1, 1983
- (109) KINDRED B.:
Nude mice in immunology.
Prog. Allergy 26:137, 1979
- (110) KIRMANI N., GINN R.K., MITTAL K.K., MANIS-CHEWITZ J.F., QUINNAN G.V.JR.:
Cytomegalovirus-specific cytotoxicity mediated by non T-lymphocytes from peripheral blood of normal volunteers.
Infect. Immun. 34:441, 1981

- (111) KO H.S., FU S.M., WINCHESTER R.J., YU D.T.Y., KUNKEL H.G.:
Ia determinants on stimulated human T lymphocytes.
J. Exp. Med. 150:246, 1979
- (112) KOVITHAVONGS T., DOSSETOR J.B.:
The real meaning of changing peripheral blood helper to cytotoxic/suppressor cell ratio during renal allograft rejection.
Transpl. Proc., Vol.XVI, No.6, 1984
- (113) KRÖNKE M., LEONARD W.J., DEPPER J.M., ARYA S.K., WONG-STAHN F., GALLO R.C., WALDMAN T.A., GREENE W.C.:
Cyclosporine inhibits T cell growth factor gene expression at the level of mRNA transscription.
PNAS 81:5214, 1985
- (114) KUPIEC-WEGLINSKI J.W., FILHO M.A., STROM T.B., TILNEY N.L.:
Sparing of suppressor cells: A critical action of cyclosporine.
Transplantation 38:97, 1984
- (115) LERSCH C., HAMMER C., REICHENSPURNER H., ERTEL W., PLAHL M., LEHMANN M., KLANKE D., KROMBACH F., OSTERHOLZER G., KEMKES B.M., REICHART B.:
Zytoimmunologisches Monitoring im peripheren Blut von Patienten nach Herz- oder Herz-Lungen-Transplantation.
Das aktuelle Thema, Wissenschaftliche Informationen, Anästhesie, Fresenius-Stiftung, 1986
- (116) LERSCH C., HAMMER C., PLAHL M., LEHMANN M., REICHENSPURNER H., REICHART B.:
Differential diagnosis between rejection and infection arising in the periperal blood in heart transplant recipients.
Chir. Forum Exp. Klin. Forschung, Suppl., 1985

- (117) LIPINSKI M., TURSZ T., KREIS H.:
Dissoziation of natural killer cell activity and
antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity in
kidney allograft recipients receiving high-dose
immunosuppressive therapy.
Transplantation 29:214, 1980
- (118) LOWER R.R., STOFFER R.C., SHUMWAY N.E.:
Homovital transplantation of the heart.
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 41:196, 1961
- (119) LOWER R.R., SZENTPETERY S., THOMAS F.T., KEMP V.E.:
Clinical observations on cardiac transplantation.
Transpl. Proc. 8:9, 1976
- (120) LOWER R.R., SZENTPETERY S., QUINN J., THOMAS F.T.:
Selection of patients for cardiac transplantation.
Transpl. Proc. 11:293, 1979
- (121) LUBY J.P., RAMIREZ-RONDA C., RINNER S.:
A longitudinal study of varizella-zoster virus
infections in renal transplant recipients.
J. Infect. Dis. 4:659, 1977
- (122) LUFT B.J., KANSAS G., ENGLEMAN E.G., REMINGTON
J.S.:
Functional and quantitative alterations in
T lymphocyte subpopulations in acute toxoplasmosis.
J. Infect. Dis. 150:761, 1984
- (123) LYDYARD P.M., HAYWARD A.R.:
Induction of suppression through human T-cell
interactions.
Clin. Exp. Immunol. 39:496, 1979

- (124) MAHER P., O'TOOLE CAROL M., WREGHITT D.J., SPIEGELHALTER D.T., ENGLISH A.H.:
Cytomegalovirus infection in cardiac transplant recipients associated with chronic T cell subset ratio inversion with expansion of a Leu-7+ Ts-c+ subset.
Clin. Exp. Immunol. 62:515, 1985
- (125) MARBOE C.C., SCHIERMAN S.W., ROSE E., REEMTSMA K., FENOGLIO J.J.JR.:
Characterization of mononuclear cell infiltrates in human cardiac allografts.
Transpl. Proc., Vol.XVI, No.6, 1984
- (126) MARGREITER R., FUCHS D., HAUSEN A., HUBER C., REIBNEGGER G., SPIELBERGER M., WATCHER H.:
Neopterin as a new biochemical marker for diagnosis of allograft rejection.
Transplantation 38:650, 1983
- (127) DE MARTINO M., ROSSI M.E., MUCCIOLI A.T., RESTI M., VIERUCCI A.:
Interference of hepatitis B virus surface antigen with natural killer cell function.
Clin. Exp. Immunol. 61:90, 1985
- (128) MASON D.W.:
The mechanism of allograft rejection - Progress and Problems.
Transpl. Proc., Vol.XV, No.1, 1983
- (129) MAYAWAKI T., SEKI H., KUBO M., TANIGUCHI N.:
Suppressor activity of T-lymphocytes from infants assessed by co-culture with unfractionated adult lymphocytes in the pokeweed mitogen system.
J. Immunol. 123:1092, 1979

- (130) MAZAHERI R., LAUPACIS A., KEOWN P., HOWSON W., SINCLAIR N.R., STILLER C.R.:
Lymphocyte subsets in the allograft recipient:
Correlation of helper to suppressor ratio with
clinical events.
Transpl. Proc., Vol.XIV, No.4, 1982
- (131) MAZAHERI R., STILLER C.R., KEOWN P., MCKENZIE N., HOWSON W., FARROW K., MCFARLANE D., SINCLAIR N.R.:
Temporal Effect of cyclosporine immunosuppression
on T lymphocyte subsets, Ia-reactive cells, and
donor-specific immunity in cardiac allograft
recipients.
Transpl. Proc., Vol. XVI, No.6, 1984
- (132) MAZAHERI R., STILLER C.R., KEOWN P.:
Monitoring the effect of cyclosporine immuno-
suppression on lymphocyte subsets by flow cytometry
and monoclonal antibodies.
Transpl. Proc. 16:1086, 1984
- (133) MEHRA V., MASON L.H., FIELDS J.P., BLOOM B.R.:
Lepromin induced suppressor cells in patients with
leprosy.
J. Immunol. 123:1813, 1979
- (134) MEHRA V., MASON L.H., ROTHMAN W., REINHERZ E., SCHLOSSMAN S.F., BLOOM B.R.:
Delineation of a human T cell subset responsible
for lepromin-induced suppression in leprosy
patients.
J. Immunol. 125:1183, 1980
- (135) MILLER K., PITTARD W.B., SORENSEN R.U.:
Cord blood B cell differentiation. Synergistic
effect of pokeweed mitogen and staphylococcus aureus
on in vitro differentiation of B cells from human
neonates.
Clin. Exp. Immunol. 56:415, 1984

- (136) MIYAWAKI T., MORIYA N., NAGAOKI T., KUBO M., YOKOI T., TANIGUCHI N.:
Mode of action of humoral suppressor factor derived from pokeweed mitogen-stimulated cord T-cells on adult B-cell differentiation.
J. Immunol. 126:282, 1981
- (137) MIZEL S.B.:
Interleukin 1 and T cell activation.
Immunol. Rev. 63:51, 1982
- (138) MOHANAKUMAR T., ELLIS T.M., REINITZ E.R., PAGE S.O., MENDEZ-PICON B., GOLDMAN M.H., LOWER R., LEE H.M.:
Daily monitoring of T cell subpopulations in renal allograft recipients: High-resolution measurement of T cell kinetics and their relevance to clinical course.
Transpl. Proc., Vol.XVI, No.6, 1984
- (139) MORRIS P.J., CARTER N.P., CULLEN P.R.:
Role of T-cell subset monitoring in renal allograft recipients.
N. Engl. J. Med. 306:1110, 1982
- (140) MORRIS P.J.:
Renal transplantation cytology.
Proceedings of the second international Workshop, Milan, Italy, Wichtig Editore, p113, 1984
- (141) MSHANA R.N., HAREGEWOIN A., HARBOE M., BELEHU A.:
Thymus dependent lymphocytes in leprosy. T lymphocyte subpopulations defined by monoclonal antibodies.
Int. J. Lepr. 50:291, 1982

- (142) MURPHY J.F., McDONALD F.D., DAWSON M.:
Factors affecting the frequency of infection in
renal transplant recipients.
Arch. Intern. Med. 136:670, 1976
- (143) MUSTAFA A.S., GODAL T.:
In vitro induction of human suppressor T cells
by mycobacterial antigens. BCG activated OKT4+ cells
mediate suppression of antigen induced T cell
proliferation.
Clin. Exp. Immunol. 52:29, 1983
- (144) NABHOLZ M., ENGERS H.D., COLLAVO D.:
Clones T cell lines with specific cytotoxic
activity.
Curr. Topics Microbiol. Immunol. 81:176, 1978
- (145) NAGAOKI T., MORIYA N., MIYAWAKI T., SEKI H., KUBO
M., YOKOI T., OKUDA N., TANIGUCHI N.:
Suppression of B-cell differentiation by dialyzable
humoral factors derived from pokeweed mitogen-
stimulated cord T-cells.
J. Immunol. 125:1563, 1980
- (146) NANNI-COSTA A., VANGELISTA A., FRASCA M., STEFONI
S., BONOMINI V.:
T-cell subsets in renal allograft recipients.
Transpl. Proc., Vol.XV, No.1, 1983
- (147) NARAYANAN R.B., LAAL S., SHARMA A.K., BHUTANI L.K.,
NATH I.:
Differences in predominant T cell phenotypes and
distribution pattern in reactional lesions of
tuberculoid and lepromatous leprosy.
Clin. Exp. Immunol. 55:623, 1983

- (148) NOTKINS A.L., OLDSTONE M.B.A.:
Concepts in viral pathogenesis.
Springer Verlag, 1984
- (149) OKA T., YOSHIMURA N., OHMORI Y., AIKAWA I., MATSUMURA T., USUI T., ARAKAWA K., HASHIMOTO I.:
Analysis of lymphocytes concerned in spontaneous blastogenesis during acute rejection.
Transpl. Proc., Vol.XV, No.4, Supple.1, 1983
- (150) OYER P.E., STINSON E.B., SHUMWAY N.E.:
Cardiac transplantation: Current indications and results.
9.gemeinsame Tagung Dtsch.-Österr. Ges. Intern. Intensivmed., Linz, 1977
- (151) OYER P.E.:
The Stanford experience in clinical heart transplantation.
8.Münchener Transplantationsforum, 1979
- (152) OYER P.E., STINSON E.B., JAMIESON S.W., BILLINGHAM M., SCOTT W., BIEBER C.P., REITZ B.A., SHUMWAY N.E.:
Cyclosporin A in cardiac allografting: A preliminary experience.
Transpl. Proc. 15:1247, 1984
- (153) PASS R.F., WITHLEY R.J., WHELCHER J.D.:
Identification of patients with increased risk of infection with herpes simplex virus after renal transplantation.
J. Infect. Dis. 140:487, 1979
- (154) PEARSON G.R.:
In vitro and in vivo investigation on antibody-dependent cellular cytotoxicity.
Curr. Top. Microbiol. Immunol. 80:65, 1978

- (155) PENNLINE K.J., EDWARDS M.G., WHITE S., GELFAND M., HELFRICH G.H.:
T cell subset analysis and immune monitoring of kidney transplant recipients. Experiencing reversal or nonreversal of steroid-resistant rejection by plasma leukopheresis.
Transpl. Proc., Vol.XVI, No.6, 1984
- (156) PENNOCK J.L., OYER P.E., REITZ B.A., JAMIESON S.W., BIEBER C.P., WALLWORK J., STINSON E.B., SHUMWAY N.E.:
Cardiac transplantation in perspective for the future.
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 83:168, 1982
- (157) PLATT J.L., LE BIEN T.W., MICHAEL A.F.:
Interstitial mononuclear cell populations in renal graft recipients.
J. Exp. Med. 155:17, 1982
- (158) PLATT J.L., FERGUSON R.M., SIBLEY R.K.:
Renal interstitial cell populations in cyclosporine nephrotoxicity. Identification using monoclonal antibodies.
Transplantation 36:343, 1983
- (159) POLLARD R.B., ARVIN A.M., GAMBERG P., RAND K.H., GALLAGHER J.G., MERIGAN T.C.:
Specific cell-mediated immunity and infections with herpes viruses in cardiac transplant recipients.
Am. J. Med. 73:679, 1982
- (160) QUINNAN G.V., MANISCHEWITZ J.E., ENNIS F.A.:
Cytotoxic T lymphocyte response to murine cytomegalovirus infection.
Nature 273:541, 1978

- (161) QUINNAN JR. G.V., KIRMANI N., ROOK A.H., MANISCHEWITZ J.F., JACKSON L., MORESCHI G., SANTOS G.W., SARAL R., BURNS W.H.:
Cytotoxic T cells in cytomegalovirus infection.
N. Engl. J. Med. 307:7, 1982
- (162) QUINNAN JR. G.V., BURNS W.H., KIRMAN N., ROOK A.H., MANISCHEWITZ J.F., JACKSON L., SANTOS G.W., SARAL R.:
HLA-restricted cytotoxic T lymphocytes are an early immune response and important defense mechanism in cytomegalovirus infection.
Rev. Inf. Dis. 6:156, 1984
- (163) RAND K.H., RASMUSSEN L.E., POLLARD R.B.:
Cellular immunity and herpes virus infections in cardiac transplant patients.
N. Engl. J. Med. 296:1377, 1977
- (164) REA T.H.:
Suppressor cell activity and phenotypes in the blood or tissues of patients with leprosy.
Clin. Exp. Immunol. 54:298, 1983
- (165) REEM G.H., COOK L.A., PALLADINA M.A.:
Cyclosporins inhibits interleukin 2 and gamma interferon synthesis by human thymocytes.
Transpl. Proc. 15:2387, 1983
- (166) REICHENSPURNER H., ERTEL W., HAMMER C., LERSCH C., REICHART B., ÜBERFUHR P., WELZ A., REBLE B., KEMKES B.M., GOKEL M.:
Immunologic monitoring of heart transplant patients under cyclosporine immunosuppression.
Transpl. Proc., Vol.XVI, No.5, 1984

- (167) REICHENSPURNER H., LERSCH C., PLAHL M., KROMBACH F., ERTEL W., LEHMANN M., KEMKES B.M., REICHART B., REBLE B., HAMMER C., BRENDEN W.:
Cyto-immunological monitoring enables to differentiate between cardiac rejection, viral, bacterial or fungal infection in patients' blood.
Heart Transpl., Vol IV, No.2, Supple., 1985
- (168) REINHERZ E.L., RUBINSTEIN A., GEHA R.S., STRELKAUS-KAS A.J., ROSEN F.S., SCHLOSSMAN S.F.:
Abnormalities of immunoregulatory T cells in disorders of immune function.
N. Engl. J. Med. 301:1018, 1979
- (169) REINHERZ E.L., KUNG P.C., GOLDSTEIN G., SCHLOSSMAN S.F.:
A monoclonal antibody reactive with the human cytotoxic/suppressor T cell subset previously defined by a heteroantiserum termed TH 2.
J. Immunol. 124:1301, 1980
- (170) REINHERZ E.L., O'BRIEN C., ROSENTHAL P., SCHLOSSMAN S.F.:
The cellular basis for viral induced immunodeficiency: Analysis by monoclonal antibodies.
J. Immunol. 125:1269, 1980
- (171) REINHERZ E.L., SCHLOSSMAN S.F.:
Regulation of the immune response. Inducer and suppressor T lymphocyte subsets in human beings.
N. Engl. J. Med. 303:370, 1980
- (172) RENKONEN R., SOOTS A., VON WILLEBRAND:
Lymphoid cell subclasses in rejecting renal allografts in the rat.
Cell. Immunol. 77:187, 1983

- (173) RICHARDSON W.P., COLVIN R.B., CHEESMAN S.H.,
TOLKOFF-RUBIN N.E., HERRIN J.T., COSIMI A.B.,
COLLINS A.B., HIRSCH M.S., McCLUSKEY R.T., RUSSELL
P.S., RUBIN R.H.:
Glomerulopathy associated with cytomegalovirus
virennia in renal allografts.
N. Engl. J. Med. 365:57, 1981
- (174) RIFKIND D., FARIS T.D., HILL R.B.:
Pneumocystis carinii pneumonia in the United States.
Ann. Intern. Med. 65:943, 1966
- (175) RINALDO JR. C.R., HAMOUDI W.H., DeBIASIO R.L., RUBIN
B., HAKALA T.R., LIEBERT M.:
Cellular immune response and cytomegalovirus
infection in renal transplant recipients receiving
cyclosporine.
Transpl. Proc., Vol.XV, No.4, Supple.1, 1983
- (176) RINALDO JR. C.R., HO M., HAMOUDI W.H.:
Lymphocytes subsets and natural killer cell
responses during cytomegalovirus mononucleosis.
Infect. Immunol. 40:472, 1983
- (177) RODER J.C., KARRE K., KIESSLING R.:
Natural killer cells.
Prog. Allergy 28:66, 1981
- (178) ROENHORST H.W., JOSEE M., BEELEN M., MIDDELDORP
J.M., SCHIRM J., TEGZESS A.M., THE T.H.:
Maintenance of cytomegalovirus latency and host
immune responses of long term renal allograft
survivors. Secondary cytomegalovirus infections
associated with impaired in vitro proliferative
responses to mitogens, allogeneic lymphocytes and
cytomegalovirus infected cells.
Clin. Exp. Immunol. 61:72, 1985

- (179) ROSE M.L., GRACIE J.A., FRASER A., CHISHOLM P.M.,
YACOB M.H.:
Use of monoclonal antibodies to quantitate T lympho-
cyte subpopulations in human cardiac allografts.
Transplantation 37, 1984
- (180) ROSENBERG S.A., SPIESS P.J., SCHWARZ S.:
In vivo administration of interleukin 2 enhances
specific alloimmune responses.
Transplantation 35:631, 1983
- (181) ROSSITER P.B.:
Proliferation of T lymphoblasts in rabbits fatally
infected with the herpes virus of malignant
catarrhal fever.
Clin. Exp. Immunol. 54:547, 1983
- (182) RUBIN R.H., COSIMI A.B., TOLKOFF-RUBIN N.E.:
Infectious disease syndromes attributable to cyto-
megalovirus and their significance among renal
transplant recipients.
Transplantation 24:458, 1977
- (183) RUBIN R.H., COSIMI A.B., TOLKOFF-RUBIN N.E., RUSSEL
P.S., HIRSCH M.S.:
Infectious disease syndromes attributable to
cytomegalovirus and their significance among renal
transplant recipients.
Cell. Immunol. 37:31, 1977
- (184) RUBIN R.H., CARNEY W.P., SCHOOLEY R.T., COLVIN R.B.,
BURTON R.C., HOFFMAN R.A., HANSEN W.P., COSIMI
A.B., RUSSELL P.S., HIRSCH M.S.:
The effect of infection on T lymphocyte subpopu-
lations. A preliminary report.
J. Immunopharmac. 3:307, 1981

- (185) RUUSKANES O., PITTARD W.B., MILLER K., PIERCE G., SORENSEN R.U., POLMAR S.H.:
Staphylococcus aureus Cowan I-induced immunoglobulin production in human cord blood lymphocytes.
J. Immunol. 125:411, 1980
- (186) SANTOLI D., KOPROWSKI H.:
Mechanism of activation of human natural killer cells against tumor- and virus-infected cells.
Immunol. Rev. 44:125, 1979
- (187) SCHOBER O., SCHÜLER S., WARNECKE H., GRATZ K., LANG W., CREUTZIG H., HETZER R.:
Linksventrikuläre Volumina und Auswurf fraktion bei herztransplantierten Patienten mit Metallmarkern.
In Vorbereitung
- (188) SCHOOLEY R.T., HIRSCH M.S., COLVIN R.B., COSIMI A.B., TOLKOFF-RUBIN N.E., McCLUSKEY R.T., BURTON R.C., RUSSELL P.S., HERRIN J.T., DELMONICO F.L., GIORGI J.V., HENLE V., RUBIN R.H.:
Association of herpes virus infections with T lymphocyte subset alterations, glomerulopathy and opportunistic infections after renal transplantation.
N. Engl. J. Med. 308:307, 1983
- (189) SCHROEDER J.S.P., RIDER A.K., STINSON E.B., SHUMWAY N.E.:
Cardiac transplantation: Review of seven years.
Transpl. Proc. 8:5, 1976
- (190) SCHROFF R.W., GALE R.P., FAHEY J.L.:
Regeneration of T cell subpopulations after bone marrow transplantation: Cytomegalovirus infection and lymphoid subset imbalance.
J. Immunol. 129:1926, 1982

- (191) SEBENING F., KLINNER W., MEISNER H., SCHMIDT-HABELMANN P., STRUCK E., SPELSBERG F.:
Bericht über die Transplantation eines menschlichen Herzens.
Dtsch. Med. Wschr. 94:883, 1969
- (192) SEEGER A., HETZER R., WARNECKE H., SCHÜLER S., AMENDE I., LICHTLEN P.:
Radionuklid-Ventrikulographie bei der Nachsorge Herztransplantierter.
In Vorbereitung
- (193) SHAPIRO H.A.:
Experience with human heart transplantation.
Proc. of the Cape Town Symposium, Butterworth, Durban, 1969
- (194) SHIELD C.F., BLACKMORE M., LEMON J.A., COCK J.L.:
Posttransplant immune monitoring with monoclonal antibodies.
Transpl. Proc., Vol.XVI, No.6, 1984
- (195) SHIRATSUCHI H., TSUYUGUCHI I.:
Analysis of T cell subsets by monoclonal antibodies in patients with tuberculosis after in vitro stimulation with purified protein derivate of tuberculin.
Clin. Exp. Immunol. 57:271, 1984
- (196) SHUMWAY N.E.:
The experimental basis for heart transplantation.
Bull. Amer. Coll. Surg. 5, 1981
- (197) SINGH G., RABIN B., GRIFFITH B., THOMPSON M., NALESNIK M., HARDESTY R.:
Posttransplant monitoring in cardiac allografts.
Transpl. Proc., Vol.XV, No.3, 1983

- (198) SMITH K.A., LACHMAN L.B., OPPENHEIM J.J.:
The functional relationship of the interleukins.
J. Exp. Med. 151:1551, 1980
- (199) SMITH W.J., BURDICK J.F., WILLIAMS G.M.:
T-subset monitoring in the renal transplant
recipient.
Transpl. Proc., Vol.XV, No.3, 1983
- (200) SMITH W.J., BURDICK J.F., WILLIAMS G.M.:
Fluorescent and light microscopic analysis of
peripheral blood leukocytes from human renal allo-
graft recipients.
Transpl. Proc., Vol.XVI, No.6, 1984
- (201) SOLBACH W., BARTH S., RÖLLINGHOFF M., WAGNER H.:
Interactions of human T cell subsets during the
induction of cytotoxic T lymphocytes: the role of
interleukins.
Clin. Exp. Immunol. 49:167, 1982
- (202) STADLER J., KOLLER C., HAMMER C., WEBER B., LAND
W., CASTRO L.A., BRENDEL W.:
Monitoring of viral infections after renal trans-
plantation by fine needle aspiration biopsy and
monoclonal antibodies.
Transpl. Proc., Vol.XVII, No.1, 1985
- (203) STARR S.E., GARRABRANT T.:
Natural killing of cytomegalovirus-infected fibro-
blasts by human mononuclear leukocytes.
Clin. Exp. Immunol. 46:484, 1981
- (204) STINSON E.B., BIEBER C.P., GRIEPP R.B., CLARK D.A.,
SHUMWAY N.E., REMINGTON J.S.:
Infectious complications after cardiac transplan-
tation in man.
Ann. Intern. Med. 74:22, 1971

- (205) STRASSMAN G., BACH F.H., ZARLING J.M.:
Depletion of human NK cells with monoclonal antibodies allows the generation of cytotoxic T lymphocytes without NK-like cells in mixed cultures.
J. Immunol. 130:1556, 1983
- (206) STROM T.B., KUPIEC-WEGLINSKI J.W., HEIDECHE C.D., TILNEY N.L.:
The cellular and molecular basis of allograft rejection: Fact and fancy.
Transpl. Proc., Vol.XVII, No.1, 1985
- (207) STRUCK E., KÖNIG E., HAGL S., LAND W., RICHTER J.:
Herztransplantation: Erfolgreiche Behandlung postoperativer Komplikationen.
Herz 7:406, 1982
- (208) TATSUMI E., KIMURA K., TAKIUCHI Y., FUKUHARA S., SHIRAKAWA S., UCHINO H., MORIKAWA S., MINOWADA J.:
T lymphocytes expressing human Ia-like antigens in infectious mononucleosis.
Blood 56:383, 1980
- (209) TENENBAUM J.I., ST.PIERRE R.L., CERILLI G.J.:
Evaluation of immunosuppressive therapy and clinical course in renal transplants by in vitro lymphocyte transformations.
Transplantation 6:986, 1968
- (210) THOMAS J.H., PIERCE G.E., KINNAMAN M.L., WATTS L.M., CLANCY J.JR.:
Spontaneous blastogenesis as a monitor of renal allograft rejection.
Transpl. Proc., Vol.XV, No.3, 1983

- (211) THOMAS J.H., KINNAMAN M.L., PIERCE G.E., SHAW L.W.,
CLANCY J.JR.:
Spontaneous blastogenesis and protein synthesis
as monitors of renal allograft rejection.
Transpl. Proc., Vol.XVI, No.6, 1984
- (212) THONG Y.A., HANSEN S.A., VINCENT M.M., FUCILLO D.H.,
STILES W.A., BELLANTI J.A.:
Use of cryopreserved virus-infected target cells
in a lymphocytotoxicity microassay for cell-mediated
immunity to cytomegalovirus.
Infect. Immunol. 13:643, 1976
- (213) TILNEY N.L., McLENNON I., STROM T.B.:
Effects of thymectomy, thoracic duct drainage, and
radiation on T and B lymphocyte distribution and
cardiac allograft survival in rats.
Transplantation 31:26, 1981
- (214) TIMONEN T., ORTALDO J.R., HEBERMAN R.B.:
Characteristics of human large granular lymphocytes
and relationship to natural killer cells.
J. Exp. Med. 153:569, 1981
- (215) TOLEDO-PEREYRA L.H., WHITTEN J.I., TOBEN H.R.:
Monoclonal antibodies to the cytotoxic/suppressor
population of T cells may identify the high-risk
transplant patient.
Transpl. Proc. 15:1985, 1983
- (216) TOSATO G., MAGRATH I., KOSKI I., DOOLEY N., BLAESE
R.M.:
B cell differentiation and immunoregulatory T-cell
function in human cord blood lymphocytes.
J. Clin. Invest. 66:383, 1980

- (217) TROYE-BLOMBERG M., SJÖHOLM P.E., PERLMANN H.,
PATARROYO M.E., PERLMANN P.:
Regulation of the immune response in plasmodium
falciparum malaria. Nonspecific proliferative
responses in vitro and characterization of lympho-
cytes.
Clin. Exp. Immunol. 53:235, 1983
- (218) TROYE-BLOMBERG M., ROMERO P., PATARROYO M.E.,
BJÖRKMAN A., PERLMANN P.:
Regulation of the immune response in plasmodium
falciparum malaria. Proliferative response to
antigen in vitro and subset composition of T cells
from patients with acute infections or from immune
donors.
Clin. Exp. Immunol. 58:380, 1984
- (219) VAN ES A., TANKE H.J., BALDWIN W.M., OLJANS P.J.,
PLOEM J.S., VANES L.A.:
Ratios of T lymphocyte subpopulations of cadaver
renal allografts in adult patients on low dose
corticosteroid therapy.
Clin. Exp. Immunol. 52:13, 1983
- (220) VAN ES A., MEYER C.J.L., OLJANS P.J.:
Mononuclear cells in renal allografts. Correlation
of peripheral blood T lymphocyte subpopulations
and graft prognosis.
Transplantation 37:134, 1984
- (221) VERDONCK F.L., DE GAST G.C.:
Is cytomegalovirus infection a major cause of T cell
alterations after autologous bone-marrow transplan-
tation?
Lancet 8:932, 1984

- (222) VEREERSTRAETEN P., ROMASCO F., KINNAERT P., DUPONT E., WYBRAN J., TOUSSAINT C.:
T cell subset patterns in periphral blood and in fine needle aspiration lymphocytes after kidney transplantation.
Transpl. Proc., Vol.XVII, No.5, 1985
- (223) De WAELE M., THIELEMANS C., VAN CAMP B.K.G.:
Immunoregulatory T-cells in mononucleosis and toxoplasmosis.
N. Engl. J. Med. 305:228, 1981
- (224) DE WAELE M., THIELEMANS C., VAN CAMP B.K.G.:
Characterization of immunregulatory T-cells in EBV-induced infectious mononucleosis by monoclonal antibodies.
N. Engl. J. Med. 304:460, 1981
- (225) DeWAELE M., NAESSENS A., FOULON W., VAN CAMP B.K.G.:
Activated T-cells with suppressor/cytotoxic phenotype in acute toxoplasma gondii infection.
Clin. Exp. Immunol. 62:256, 1985
- (226) WAGNER H., HARDT C., HEEGT K.:
Wirkungsmechanismus des Ciclosporin A.
Internist 26:530, 1985
- (227) WALTZER W.C., BACHVAROFF R.J., ANAISE D., RAPAPORT F.T.:
Natural killer activity after renal transplantation.
Transpl. Proc., Vol.XVI, No.6, 1984
- (228) WALTZER W.C., BACHVAROFF R.J., ANAISE D., RAPAPORT F.T.:
Lymphocyte subpopulations in renal transplantation.
Transpl. Proc., Vol.XVI, No.6, 1984

- (229) WALZER P.D., PERL D.P., KROGSTAD D.J.:
Pneumocystis carinii pneumonia in the United States.
Ann. Intern. Med. 80:83, 1974
- (230) WANG B.S., HEACOCK E.H., COLLINS K.H., HUTCHINSON I.E., TILNEY N.L., MANNICK J.A.:
Suppressive effects of cyclosporine on the induction of alloreactivity in vivo and in vitro.
J. Immunol. 127:89, 1981
- (231) WAENECKE H., HETZER R., SCHÜLER S., GOETZE H.J., SCHÄPFERS H.J., BLAZEK J., MEYER K.D., SÜTHOFF U., BORST H.G.:
Neue Aspekte der Rejektionsdiagnostik und -therapie nach orthotoper Herztransplantation.
Thorac. Cardiovasc. Surg. 33:47, Supple.1, 1985
- (232) WEBER B., WELTE M., HAMMER C., STADLER J., KOLLER C., CASPO C., LAND W., HILLEBRAND G., CASTRO M.:
Increase of natural killer cells in rejecting kidney grafts.
Transpl. Proc., Vol.XVI, No.5, 1984
- (233) VON WILLEBRAND G.:
OKT 4/8 ratio in the blood and in the graft during episodes of human renal allograft rejection.
Cell. Immunol. 77:196, 1983
- (234) WINCHESTER R.J., KUNKEL H.G.:
The human Ia system.
Adv. Immunol. 28:221, 1979
- (235) WÜRSCH A.M., GRATAMA J.W., MIDDELDORP J.M., NISSEN C., GRATWOHL A., SPECK B., JANSEN J., DAMARO J., THE T.H., De GAST G.C.:
The effect of cytomegalovirus infection on T lymphocytes after allogeneic bone marrow transplantation.
Clin. Exp. Immunol. 62:278, 1985

- (236) ZENKER R., KLINNER W., SEBENING F., MEISNER H.,
SCHMIDT-HABELMANN P., STRUCK E., BEER R., MESSMER
K., RUDOLPH W., SCHAUER A.:

Herztransplantation - Möglichkeiten und Problematik.
Münch. Med. Wschr. 14:749, 1969

- (237) ZINKERNAGEL R.M., DOHERTY P.C.:

MHC restricts cytotoxic T cells: studies on the
biological role of polymorphic major transplantation
antigens, determining T cell restriction-specificity
function and responsiveness.

Adv. Immunol. 27:42, 1979

Worte des Dankes

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Dr. h. c. W. Brendel für die Aufnahme in seinem Institut und für die Bereitstellung der Arbeitsmöglichkeiten.

In besonderem danke ich Herrn Prof. Dr. med. Dr. med. vet. C. Hammer für die Betreuung meiner Arbeit und für die wiederholten Anregungen zur Vertiefung in die Thematik.

Mein spezieller Dank gilt Herrn Dr. med. Ch. Lersch, der mir in unermüdlicher Weise immer mit Rat und Tat zur Seite stand.

Herrn Prof. Dr. med. B. Reichart und Herrn Prof. Dr. med. B. M. Kempkes und allen Ärzten der Herzchirurgischen Klinik des Klinikums Großhadern danke ich für die enge und kollegiale Zusammenarbeit und für die Überlassung der klinischen Daten.

Für die tägliche bereitwillige Unterstützung möchte ich allen Mitarbeitern in den Labors des Instituts für Chirurgische Forschung meinen Dank aussprechen.

LEBENS LAUF

Name: Michael Plahl

Geburtsdatum: 15.07.1960

Geburtsort: Freising

Vater: Georg Plahl, Sonderschulkonrektor

Mutter: Martha Plahl, geb. Voith

Schulbildung: 1966-1970 Grundschule in Freising-Lerchenfeld

1970-1979 Domgymnasium Freising

1979 Allgemeine Hochschulreife

Wehrdienst: 1979-1980

Studium: 1980 Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München

8/1982 Ärztliche Vorprüfung

10/1982 Beginn der Doktorarbeit im Institut für Chirurgische Forschung der LMU München

8/1983 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

8/1985 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

10/1986 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

11/1986 Approbation als Arzt

Year	Number of Deaths	Number of Deaths per 100,000	Number of Deaths per 100,000
1940	1,000	1.0	1.0
1941	1,000	1.0	1.0
1942	1,000	1.0	1.0
1943	1,000	1.0	1.0
1944	1,000	1.0	1.0
1945	1,000	1.0	1.0
1946	1,000	1.0	1.0
1947	1,000	1.0	1.0
1948	1,000	1.0	1.0
1949	1,000	1.0	1.0
1950	1,000	1.0	1.0
1951	1,000	1.0	1.0
1952	1,000	1.0	1.0
1953	1,000	1.0	1.0
1954	1,000	1.0	1.0
1955	1,000	1.0	1.0
1956	1,000	1.0	1.0
1957	1,000	1.0	1.0
1958	1,000	1.0	1.0
1959	1,000	1.0	1.0
1960	1,000	1.0	1.0
1961	1,000	1.0	1.0
1962	1,000	1.0	1.0
1963	1,000	1.0	1.0
1964	1,000	1.0	1.0
1965	1,000	1.0	1.0
1966	1,000	1.0	1.0
1967	1,000	1.0	1.0
1968	1,000	1.0	1.0
1969	1,000	1.0	1.0
1970	1,000	1.0	1.0
1971	1,000	1.0	1.0
1972	1,000	1.0	1.0
1973	1,000	1.0	1.0
1974	1,000	1.0	1.0
1975	1,000	1.0	1.0
1976	1,000	1.0	1.0
1977	1,000	1.0	1.0
1978	1,000	1.0	1.0
1979	1,000	1.0	1.0
1980	1,000	1.0	1.0
1981	1,000	1.0	1.0
1982	1,000	1.0	1.0
1983	1,000	1.0	1.0
1984	1,000	1.0	1.0
1985	1,000	1.0	1.0
1986	1,000	1.0	1.0
1987	1,000	1.0	1.0
1988	1,000	1.0	1.0
1989	1,000	1.0	1.0
1990	1,000	1.0	1.0
1991	1,000	1.0	1.0
1992	1,000	1.0	1.0
1993	1,000	1.0	1.0
1994	1,000	1.0	1.0
1995	1,000	1.0	1.0
1996	1,000	1.0	1.0
1997	1,000	1.0	1.0
1998	1,000	1.0	1.0
1999	1,000	1.0	1.0
2000	1,000	1.0	1.0
2001	1,000	1.0	1.0
2002	1,000	1.0	1.0
2003	1,000	1.0	1.0
2004	1,000	1.0	1.0
2005	1,000	1.0	1.0
2006	1,000	1.0	1.0
2007	1,000	1.0	1.0
2008	1,000	1.0	1.0
2009	1,000	1.0	1.0
2010	1,000	1.0	1.0
2011	1,000	1.0	1.0
2012	1,000	1.0	1.0
2013	1,000	1.0	1.0
2014	1,000	1.0	1.0
2015	1,000	1.0	1.0
2016	1,000	1.0	1.0
2017	1,000	1.0	1.0
2018	1,000	1.0	1.0
2019	1,000	1.0	1.0
2020	1,000	1.0	1.0

